12/C

ANNO XV SERIE TERZA 1957 - N° 1

BOLLETTINO

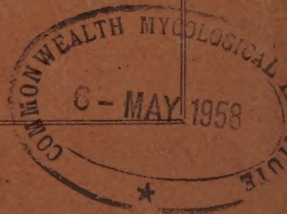
DELLA

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

PUBBLICAZIONE
DELLA STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
DIRETTA DAL
PROF. C. SIBILIA
ROMA - Via Casal de' Pazzi, 250



ROMA
TIPOGRAFIA FAUSTO FAILLI
VIA TUSCOLANA 128 - ROMA
1958



Personale scientifico della Stazione di Patologia Vegetale

Prof. Cesare Sibilia, *Direttore*.
Prof. Roberto Gigante, *Aiuto-direttore*.
Prof. Mario Tirelli, » , incaricato della Direzione dell'Osservatorio Fitopatologico per il Lazio.
Prof. Vincenzo Grasso, »
Dott. Franco Gualaccini, »
Dott. Carla Modugno-Pettinari, »
Dott. Giovanni Emiliani, *Sperimentatore*.
Dott. Rita Basile, »
Dott. Anna Saponaro, »
Dott. Osvaldo Lovisolo, »
Dott. Gastone Solaroli, *Ispettore principale, comandato*.
Dott. Mario Rosa, *Ispettore agrario*, »
Dott. Anna Luisa Madaluni, *Borsista*.
Per. Agr. Vittorio Nardi, *Esperto*.

Indice del presente fascicolo

RITA BASILE - AGNESE LEONORI-OSSICINI - GIUSEPPINA ZITELLI

RAZZE FISIOLOGICHE DI *PUCCINIA GRAMINIS* VAR. *TRITICI* (ERIKSS. ET HENN.) ISOLATE DA MATERIALE RACCOLTO IN ITALIA (ANNI 1953, 1954 E 1955) (*)

Ricerche effettuate nell'anno 1953 (**)

È con viva riconoscenza che da qui porgiamo il nostro più sentito ringraziamento al Prof. E.C. Stakman ed al suo collaboratore Dott. D.M. Stewart del « Department of Plant Pathology and Botany » dell'Università del Minnesota, che, con gentile lettera dell'11 marzo 1958, ci hanno comunicato la numerazione internazionale da loro assegnata a tutte le razze fisiologiche nuove di *P. graminis* var. *tritici* da noi isolate fino ad oggi, che verranno inserite nel prossimo Registro Internazionale e Chiave Analitica. In conseguenza di tale gentile comunicazione cogliamo l'occasione per fare una revisione delle nostre razze isolate nel 1953 e già pubblicate (1955), come è possibile vedere nella tabella I.

A queste razze ritenute nuove noi avevamo dato la sigla provvisoria « R », iniziale della parola Roma, seguita da un numero arabo, oppure da una lettera alfabetica. Pertanto tutte le razze « R » che si incontreranno nella presente nota saranno precedute dalla numerazione internazionale.

Ricerche effettuate durante il 1954 (***)

Nel 1954 è stato allargato il nostro campo di indagini ad un totale di 23 centri di raccolta che ci permettono di avere elementi più significativi. Dai dati raccolti ed esposti nelle tabelle II, III, IV e V, è possibile fare dei rilievi molto interessanti.

(*) Il lavoro è stato eseguito in collaborazione con l'Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura di Roma (*Direttore U. De Cillis*).

(**) Le razze fisiologiche studiate nel 1953 sono state isolate ed identificate rispettivamente da:

R. BASILE : 21, 269 (R3) e 234 (R4).

A. LEONORI-OSSICINI : 75, 268 (R2), 271 (R6) e 272 (R7).

M. ROSA : 17, 245 (R-B) e 270 (R5).

(***) Le razze fisiologiche qui trattate sono state isolate, coltivate ed identificate nel 1954, rispettivamente da:

R. BASILE : 11, 14, 21, 34, 245 (R-B), 272 (R7), 250 (R10), 251 (R11) e 252 (R12).

A. LEONORI-OSSICINI : 11, 16, 17, 21, 34, 115, 207 e 253 (R13).

Tabella I

Numero di protocollo	Provenienza	Tipo di frumento	« Little Club »	«Marquis»	«Reliance»	«Kota»	«Arnautka»	«Mindum»	«Spelmar»	«Kubanka»	«Acme»	«Einkorn»	«Vernal»	«Khapli»	Designazione prima riportata	Razza fisiologica valida	Sperimentatore
31	Rieti (San Pastore)	« Koorda »	4	4—	0	3+	4—	4—	4—	4	4	3	1	1	11	17	M. Rosa
55	Rovigo (Badia Polesine)	« Giuliari »	4	4	0	4	4	4—	4—	4—	4—	2+	1	1	17	21	R. Basile
13ª	Roma (Inviolatella)	« Little Club » . .	4—	4—	0	2+	4—	4—	4	3++	3++	2+	1	1—	17	75	A. Leonori-Oss.
8	Rieti (San Pastore)	« W.R. 46 » (*) . .	4—	4	0	2	4	3	4	4	2+	3+	1	0	24	268 (R2)	A. Leonori-Oss.
29	Roma (Inviolatella)	« 1260 »	4	2+	0	0	3+	4	3++	3++	4	4—	1—	4—	P.G.R.$_1$	245(R-B)	M. Rosa (****)
48	Piacenza (Fiorenzuola)	« Giuliari »	3+	3	0	4—	4—	4	0	4	0	1—	1—	0	P.G.R.$_2$	269 (R3)	R. Basile.
73ª	Roma (Casal de' Pazzi)	« Roma »	0	0	0	0	2—	3	2+	2--	0	1—	0	0	P.G.R.$_3$	234 (R4)	R. Basile
53ᶜ	Rieti (San Pastore)	« W.R. 177 » (**)	4	4	1+	4	3+	3++	4	4	4	4	3+	3+	P.G.R.$_4$	270 (R5)	M. Rosa
12b	Milano (Sant'Angelo)	« Tevere »	4	4—	3	4—	4	0	0	0	4—	2+	1	1	P.G.R.$_5$	271 (R6)	A. Leonori-Oss.
12ª	Milano (Sant'Angelo)	« Tevere »	4	4	3	4—	4—	2	0	1	4	2—	1+	2—	P.G.R.$_6$	271 (R6)	A. Leonori-Oss.
9	Rieti (San Pastore)	« W.R. 47 » (***)	4—	4—	0	4	4	2	0	4	2++	2+	1	2—	P.G.R.$_7$	272 (R7)	A. Leonori-Oss.

(*) *Triticum vulgare* var. *ferrugineum*, tipo 1117/1 della Stazione Sperimentale di Ankara.

(**) Frumento iraniano indicato col n. 9358.

(***) *Tr. durum* var. *leucurum*, tipo 1121/1 della Stazione Sperimentale di Ankara.

(****) R-B indica una razza fisiologica già identificata da Sibilia (1936) e comunicata dall'Autore con la sigla A.O.I.3.

La razza fisiologica 21, già rinvenuta a Rovigo nella precedente annata, come è possibile desumere dalla tabella I della presente Nota, è la più diffusa perchè trovata a Caserta, Firenze, Grosseto, Milano, Pescara, Roma-Ciampino, Roma-Maccarese, Rieti, Salerno e Vercelli. Questa razza era già stata segnalata per l'Europa, in Germania da HASSEBRAUK (1938), in Francia da PONCHET (1936), in Spagna da DE URRIES (1951), in Ungheria da HASSEBRAUK (1936) e in Grecia da HASSEBRAUK (1936), ma non si era ancora trovata in Italia con tanta frequenza. È una razza sufficientemente virulenta con un tipo di infezione oscillante intorno a 4 su otto frumenti della serie di prova e con 0 oppure 1 — 0 su Reliance, Einkorn, Vernal e Khapli, per i quali frumenti però tale tipo di reazione è molto frequente. Di questa razza diamo il tipo di infezione medio (tabella IV).

Nell'anno 1954 sono state reperite le seguenti razze fisiologiche : 11, 14, 16, 17, 21, 34, 115, 207, 245 (R-B), 272 (R7), più le altre quattro: 250 (R10), 251 (R11), 252 (R12) e 253 (R13), che sono nuove per il mondo (vedi tabella V). La 21 è la più frequente essendo stata riscontrata in dieci località fra le ventitrè esaminate. In definitiva questa razza fisiologica geograficamente tanto diffusa e con caratteristiche patogeniche elevate merita di essere sorvegliata e studiata nei suoi effetti nei prossimi anni perchè potrebbe diventare un pericolo per le nostre colture di frumento.

Fra le altre razze da noi esaminate la 11, la 14, la 16, la 34, la 115 e la 207 sono segnalate per la prima volta in Italia. Fra queste la 11, la 115 e la 207 sono nuove per l'Europa, mentre le altre erano già conosciute in Polonia da GARBOWSKI (1939), in Germania da HASSEBRAUK (1938), in Francia da PONCHET (1956), in Spagna da DE URRIES (1951), in Portogallo da D'OLIVEIRA (1940), in Grecia da HASSEBRAUK (1936), in Bulgaria da DODOFF (1934) e in Svezia da GUSTAVSON (1957). Queste razze, disposte in ordine di decrescente virulenza, intendendo con ciò la suscettibilità o la resistenza dimostrata dai dodici frumenti sensibili della serie standard, sono trascritte come segue :

S S S S S S S S S S R R . . . . Razza fisiologica 11
S S S S S S S S S R R R . . . . Razza fisiologica 34
S R S S S S S S S S S R . . . . Razza fisiologica 115
S R R S S S S S S R R R . . . . Razza fisiologica 207
S R R R S S S S S S R R . . . . Razza fisiologica 14
S R R R S S S S S R R R . . . . Razza fisiologica 16

Queste razze sono state isolate poche volte però si presentano geograficamente alquanto diffuse.

Avendole reperite solamente in poche località non destano per il momento preoccupazione.

La 17 già isolata da Sibilla (1936) e riscontrata in seguito da noi (1955), la 245 (R-B) e la 272 (R7), erano state già segnalate da noi stessi (vedi tabella I).

A queste fa seguito un gruppo comprendente altre quattro razze; 250 (R10), 251 (R11), 252 (R12) e 253 (R13) (tabella V).

Non è stato possibile avvicinare nessuna di queste razze ad altre note e pertanto esse sono nuove per il mondo.

In conclusione di quanto sopra esposto, le ricerche effettuate nel 1954 hanno messo in evidenza per la prima volta in Italia le razze fisiologiche 11, 14, 16, 116, 207, 250 (R10), 251 (R11), 252 (R12) e 253 (R13). Le razze 14, 16, 21 e 34 erano già note in Europa mentre la 11, 115 e 207 non lo erano ancora.

Tabella II

Distribuzione, nelle diverse provincie, delle sole razze fisiologiche internazionali di *Puccinia graminis* var. *tritici* isolate da campioni di frumento raccolti in Italia nell'anno 1954 (*).

Luogo di origine	Distribuzione delle razze								Totale	
	11	14	16	17	21	34	115	207	Isolamenti	Razze
Brindisi	—	1	—	—	—	—	—	—	1	1
Cagliari	—	—	—	—	—	2	—	—	2	1
Caserta	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1
Firenze	—	—	—	—	1	1	—	—	2	2
Foggia	—	—	—	—	1	—	1	—	2	2
Grosseto	—	—	—	—	2	—	—	—	2	1
Latina	—	1	—	—	—	—	—	—	1	1
Milano	—	—	—	—	2	—	—	—	2	1
Padova	—	—	—	1	—	1	—	—	2	2
Pescara	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1
Piacenza	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1
Rieti	—	—	—	—	1	—	1	1	3	3
Roma	—	—	—	1	3	—	—	—	4	2
Rovigo	1	—	1	—	—	—	—	—	2	2
Salerno	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1
Vercelli	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1
Verona	1	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Numero degli isolamenti	2	2	1	2	14	4	2	2	29	8
Numero delle località comprese	2	2	1	2	10	3	2	2	17	—

(*) Le formule di infezione media delle 8 razze internazionali trattate nella presente tabella II verranno riportate nella tabella IV. Nella tabella V verranno riportate le formule dei tipi di infezioni medie delle nuove razze fisiologiche « R », isolate durante l'anno 1954.

TABELLA III

VARIETÀ E SELEZIONI DI FRUMENTO CHE OSPITANO LE RAZZE FISIOLOGICHE INTERNAZIONALI DI *Puccinia graminis* var. *tritici* ISOLATE IN ITALIA DURANTE L'ANNO 1954.

Varietà e selezioni di origine	Frequenza delle razze sugli ospiti								Totale
	11	14	16	17	21	34	115	207	
Albimonte	—	—	—	—	—	1	—	—	1
Autonomia	—	1	—	—	—	—	—	—	1
Baudi	1	—	—	—	—	—	—	—	1
Carina	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Cremona	—	—	—	—	2	1	—	—	3
Damiano x Miracolo 16	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Florau	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Fortunato	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Hindi-Tosson (Turchia)	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Ibrido Bottazzi 75 b (96 × Ardito)	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Iran 7963	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Iran 8187	—	—	—	—	—	—	1	—	1
Non identificato	1	—	—	—	2	—	—	—	3
Orlandi 9	—	—	—	—	1	—	1	—	2
Pakistan P.B. 14	—	—	—	—	—	—	—	1	1
S. Giorgio	—	1	—	—	—	—	—	—	1
S. Pastore	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Selezione Bottazzi 246 d	—	—	—	—	—	1	—	—	1
Tevere	—	—	—	—	2	—	—	—	2
Tevere × Aquila	—	—	—	—	—	1	—	—	1
Tevere × S. Pastore	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Turano	—	—	1	—	—	—	—	—	1
Virgilio	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Totale degli isolamenti	2	2	1	2	14	4	2	2	29

Per le razze fisiologiche « R » nuove, vedere la tabella V.

Ricerche effettuate durante il 1955 (*)

Nel 1955 è stato continuato il lavoro con lo stesso criterio dell'anno precedente. I centri di Avellino, Battipaglia, Belluno, Bormio, Brindisi, Cagliari, Catania, Firenze, Foggia, Frosinone, Latina, Licata, Vercelli, Verona e Viterbo, ci hanno fornito dell'ottimo materiale di studio ed a tale proposito ci è grata l'occasione per porgere il nostro ringraziamento più sentito a tutti

(*) Le seguenti razze fisiologiche sono state isolate, coltivate ed identificate nel 1955, rispettivamente da:

R. BASILE: 16, 21, 34, 75, 111, 274 (R14), 276 (R16), 278 (R18), 294 (R21), 236 (R22), 281 (R23), 254 (R24), 237 (R25), 282 (R26), 283 (R27), 284 (R28) e 290 (R36).

A. LEONORI-OSSICINI: 11, 16, 17, 19, 20, 21, 24, 34, 53, 57, 75, 98, 116, 176, 186, 225, 275 (R15), 278 (R18), 279 (R19), 285 (R29), 238 (R30), 239 (R31), 286 (R32), 287 (R33), 288 (R34) e 289 (R35).

G. ZITELLI: 14, 21, 75, 274 (R14), 277 (R17) e 280 (R20).

TABELLA IV

FORMULE DI INFEZIONI MEDIE DELLE RAZZE FISIOLOGICHE INTERNAZIONALI DI *Puccinia graminis* var. *tritici* ISOLATE DA FRUMENTO RACCOLTO IN ITALIA DURANTE L'ANNO 1954.

Razze fisiologiche in questione	Tipo di infezione media sulle 12 varietà standard *											
	LCb	Ma	Rel	Ko	Arn	Mnd	SpM	Kub	Ac	Enk	Ver	Kpl
11	4=	3++	4=	4=	4=	4—	4=	4—	3+	3	0;	0,
14	4=	1—	0,	1=	3	4=	4=	4=	3—	3+	1=	2—
16	3+	2	0	1+	4	4	3+	4	4	2—	0	2+
17	4	4=	0	4=	4—	4—	3+	4	4=	4—	1	1=
21	4	4—	0	4	4—	4—	4—	4—	4—	1	1=	1
34	4=	3+	3	3	3	3	3	3+	3++	1—	1=	1=
115	4—	2=	3=	3+	3+	4=	4=	4	4—	3+	3—	1++
207	4	2+	0	4=	4=	3+	4=	3	4—	2	0,	1=

(*) LCb = Little Club (C.I. 4066), Ma = Marquis (C.I. 3641), Re = Reliance (C.I 7370), Ko = Kota (C.I. 5878), Arn = Arnautka (C.I. 1493), Mnd = Mindum (C.I. 5296), SpM = Spelmar (C.I. 6236), Kub = Kubanka (C.I. 2094), Ac = Acme (C.I. 5284), Enk = Einkorn (C.I. 2433), Ver = Vernal (C.I. 3686), Kpl = Khapli (C.I. 4013).
Per le razze fisiologiche « R » nuove, vedere la tabella V.

coloro che hanno collaborato al nostro lavoro inviando il materiale.

Durante il 1955 sono state isolate ed identificate complessivamente 41 razze fisiologiche di *Puccinia graminis* var. *tritici*, e precisamente diciotto razze internazionalmente già note : 11, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 24, 34, 53, 57, 75, 98, 111, 116, 176, 186 e 225 (tabelle VI, VII e IX), e ventitrè che sono nuove per il mondo : 274 (R14), 275 (R15), 276 (R16), 277 (R17), 278 (R18), 279 (R19), 280 (R20), 294 (R21), 236 (R22), 281 (R23), 254 (R24), 237 (R25), 282 (R26), 283 (R27), 284 (R28), 285 (R29), 238 (R30), 239 (R31), 286 (R32), 287 (R33), 288 (R34), 289 (R35), 290 (R36) (tabella VIII).

Come già è stato notato negli anni precedenti, anche quest'anno la razza fisiologica 21 è stata la più frequente e la più diffusa risultando presente in nove località fra le sedici esaminate, con undici isolamenti sui quarantuno complessivi. Tale razza è subito seguita, come numero di località e di isolamenti, dalle razze 75, 34 e 16 (tabella VI).

Le razze 19, 20, 24, 53, 57, 98, 111, 116, 176, 186 e 225, sono nuove per l'Italia. Fra queste le razze 20, 53, 57, 98, 111,

TABELLA V

PROVENIENZA E FORMULE DI INFEZIONE DI 7 RAZZE FISIOLOGICHE DI *Puccinia graminis* var. *tritici* NUOVE PER IL MONDO, ISOLATE DA CAMPIONI DI FRUMENTO RACCOLTI IN ITALIA DURANTE L'ANNO 1954.

Sigla provvisoria	Numerazione Internazionale	ISOLAMENTI		Tipo di infezione media sulle 12 varietà differenziali standard											
		Luogo di origine	Pianta ospite	LCb	Ma	Rel	Ko	Arn	Mnd	SpM	Kub	Ac	Enk	Ver	Kpl
R-B (*)	245	Roma	«Triticum timopheevi»	4	1+	0	0	4	4	3++	3	4	4	1	3—
R-B	245	Frosinone	non identificato	3+	2	0	0	3+	3—	3+	3	3++	3	0;	3
R7	272	Brindisi	« Cappelli »	4	4	0	4	4	1++	0	3—	2+	1++	0;	1=
R10	250	Cuneo	« Mara »	3	1	0	3	2+	3+	3—	3+	3—	1	0;	0;
R11	251	Matera	non identificato	3	2+	0	0	3+	0	1;	0	1;	1+	1;	1;
R12	252	Campotosto	non identificato	4—	1+	0	0	4—	3	3+	2+	3	3—	0;	4—
R13	253	Roma	«Triticum turgidum ?»	3++	1+	2	2+	4	4	4	x	4	2—	0;	0;

(*) R-B è una razza fisiologica già identificata da Sibilia (1936), precedentemente comunicata con la sigla: A.O.I.3 e da noi ritrovata nel 1953.

Tabella VI

Frequenza e distribuzione delle razze fisiologiche internazionalmente note di *Puccinia graminis* var. *tritici* isolate da campioni di frumento provenienti da diverse provincie italiane, durante l'anno 1955 (*)

Luogo di origine	Frequenza con cui ricorrono le razze fisiologiche specificate																		Totale	
	11	14	16	17	19	20	21	24	34	53	57	75	98	111	116	176	186	225	Isolamenti	Razze
Avellino	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Battipaglia	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	1	---	2	---	---	1	---	---	5	4
Bormio	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Cagliari	---	1	2	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4	3
Catania	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	2	2
Foggia	---	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4	4
Frosinone	---	---	---	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2	2
Latina	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	2	2
Licata	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Milano	---	---	---	---	---	---	2	---	---	---	---	1	---	---	---	1	1	---	5	4
Padova	---	---	1	1	---	---	2	1	---	---	---	2	---	---	---	---	---	---	7	5
Rieti	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	1	3	3
Rovigo	1	---	---	---	---	1	---	---	1	1	---	2	---	---	1	---	---	---	7	6
Trapani	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Vercelli	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Viterbo	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1
Numero totale degli isolamenti	1	1	5	2	1	1	11	1	6	1	1	8	2	1	1	2	1	1	47	18
Numero delle località comprese	1	1	4	2	1	1	9	1	6	1	1	6	1	1	1	2	1	1	16	---

(*) Nella tabella IX verranno riportate le formule di infezioni medie delle 18 razze fisiologiche internazionali che sono segnate nella presente tabella VI. Nella tabella VIII saranno riportate le formule delle infezioni medie delle razze fisiologiche nuove da 274 (R14) a 290 (R36) incluse, isolate durante il 1955 nelle diverse provincie italiane ed i nomi delle varietà e selezioni di frumento che le ospitano.

TABELLA VII

VARIETÀ E SELEZIONI DI FRUMENTO CHE OSPITANO LE RAZZE INTERNAZIONALI DI *Puccinia graminis* var. *tritici* ISOLATE DA MATERIALE RACCOLTO IN ITALIA DURANTE IL 1955.

Varietà e selezioni di origine.	Frequenza delle razze fisiologiche isolate dagli ospiti specifici																		Totale
	11	14	16	17	19	20	21	24	34	53	57	75	98	111	116	176	186	225	
« Aeg. Ovata × Turgidum »																	1		1
« Australiano »							1									1			2
« Balilla »									1										1
« Bianchetta »									1										1
« Brevor »												1							1
« Caravaca 1 »					1														1
« Damiano × La Provision »				1				1											2
« Damiano × Miracolo 16 »							2												2
« Damiano × N.N. »			1									1							2
« Elmar »													2						2
« Emanuel »														1					1
« Fortunato »			1																1
« Frassineto »							1		1										2
« F 51 »							1												1
« Florio »												1							1
« Funo »												1							1
« Mara »							1												1
« Marmin »											1								1
« Mentana × Aeg. ov. Ab × Damiano »							1					1							2
« Mentana × Aeg. ov. B rosso »			1	1												1			3
« Mentana × Aeg. ov. C rosso »							1												1
« Mentana × Aeg. ov. E »		1																	1
« Mentana × Aeg. ov. H »			1																1
non identificato							2		1										3
« Rossello »									1			1							2
« Samsum n. 135 »			1																1
« Type 2 »																		1	1
3-2-18-1												1							1
3-9-19-3									1	1									2
4-2-5-8															1				1
4-10-17-4	1											1							2
12-1-9-2						1													1
1245-462							1												1
Totale degli isolamenti	1	1	5	2	1	1	11	1	6	1	1	8	2	1	1	2	1	1	47

Tabella VIII

Provenienze, formule di infezione media e numerazione internazionale delle razze fisiologiche nuove di *Puccinia graminis* var. *tritici* isolate da campioni di frumento infetto raccolto in Italia durante l'anno 1955.

Numerazione internazionale e sigla provvisoria	Isolamenti		Tipo di infezione media sulle 12 varietà differenziali											
	Luogo di origine	Pianta Ospite	LCb	Ma	Rel	Ko	Arn	Mn d	SpM	Kub	Ac	Enk	Ver	Kpl
274 (R14)	Padova	« Villa Glori »	4—	3—	0	1++	2	3	1+	3	3=	1	0;	1
275 (R15)	Rieti	« San Pastore »	4	4	0	2	3+	3+	3=	1+	3	1—	0;	0;
276 (R16)	Brindisi	non identificata	4-	3—	0	3—	4	3+	3=	1++	3—	1;	1;	1;
277 (R17)	Padova	« Florio »	3+	3—	0	3—	3—	3-	1++	3—	3-	1+;	0;	1—;
278 (R18)	Cagliari	« Balilla »	3+	3	0	1+	3	3++	3	3+	1++	0—1	0;	0—1
279 (R19)	Roma	da « Ibrido Miracolo 62 »	3	3+	0	3	3+	3+	3	3=	1++	1	0—1	0;
280 (R20)	Rieti	« Brevor »	3	3+	3=	1++	3=	3=	1++	1+	0—1	1—	0	0
294 (R21)	Firenze	non identificata	1++	1	0	1++	2	2	2=	1++	2	1	0	0
236 (R22)	Belluno	« Tevere »	2	2	0—2	2++	3—	3	3	1++	3	0	0	0
281 (R23)	Roma	« S. Giorgio »	3	3—	0	2—	1++	3	3-	3=	3=	0;	0;	0;
254 (R24)	Verona	non identificata	3—	1++	1=	1	1++	1+	3=	3=	3=	1—	0	0
237 (R25)	Catania	« Timilia »	1+	3—	1—	2-	3—	3—	1++	3—	3=	2—	1=	1=;
282 (R26)	Latina	non identificata	3=	3=	1—	3—	3=	1+	3=	1—	1	1=	1	1
283 (R27)	Roma	« S. Giorgio »	4—	4—	0	0	0—1	0—1	3	4	4—	2	1;	0—1
284 (R28)	Firenze	non identificata	3+	3=	4	0	0	0	0	0	4	0	0;	2;
285 (R29)	Rieti	« Type 2 »	3+	3—	2	2-	0;	0;	2;	4	3+	0;	1;	1;
238 (R30)	Rovigo	« 4-2-5-8 »	1	1+	0	3—	1	1	1	0—1	1	0	1—	3
239 (R31)	Milano	« Aegilops crassa × T. Turg. »	1++	2	1	1	2	1+	1++	3-	3—	8	1;	1++
286 (R32)	Foggia	« Carl × Ld 320 Ld 352	3=	3	0	3=	1+	3=	1++	1+	1+	1	1;	1;
287 (R33)	Rieti	« H. 68 »	4	4	0	3+	2	2	4	4	2	1	1	0
288 (R34)	Foggia	« Çaravaca 1 »	4	3+	0	1+	1++	4-	3	1++	1++	1	1;	0;
289 (R35)	Milano	« Damiano × Pawnee »	3++	3	0	1	3+	3+	1	0	3++	1;	0	0
290 (R36)	Bormio	non identificata	4	4	0	3+	0	4+	4+	4	3+	0;	0;	0;

TABELLA IX

FORMULE DI INFEZIONI MEDIE DELLE RAZZE FISIOLOGICHE INTERNAZIONALI DI *Puccinia graminis var. tritici* ISOLATE DA FRUMENTO INFETTO RACCOLTO IN ITALIA DURANTE L'ANNO 1955.

Razze fisiologiche in questione	Tipo di infezione media sulle 12 varietà standard											
	LCb	Ma	Rel	Ko	Arn	Mnd	SpM	Kub	Ac	Enk	Ver	Kpl
11	4	4	3	3++	4	4	4	4	4	3	0—1	1
14	3+	2	0	1;	4—	3—	3+	3+	3+	3	0;	1+;
16	4=	2=	0	1—	3	3	3+	3+	3++	3++	1—	1=
17	4	3+	0	3	4=	4=	4—	4=	3	3	1	1
19	4	2—	0	3—	3=	3	3	4	3	3	0;	0—1;
20	4	4	4	3++	1	1	1++	3	1++	3	1	1
21	3++	3	0	3—	4=	4=	4=	3++	4=	1	3=	0.
24	3++	3—	0	1++	4—	4	3++	3—	4=	3+;	0—1	0;
34	4=	3++	3+	3++	4=	3++	3+	3++	3+	1	0:	1=
53	4—	2	0	1++	3	3+	3++	3+	3	3	3;	1
57	3	3	0	3	1	1	0—1	4	3—	3	3	1;
75	4—	3++	0:	1+	3++	3++	3++	4=	3+	1++	0:	1=
98	4	2	3++	4	4=	4=	3++	4=	3	1	1	2=
111	3	1++	0	1++	1++	1	2	1++	1++	0—1	0;	0;
116	4	3+	0	3+	3	4	4	4	3	1++	4—	1
176	3+	3++	1=	4—	2—	1+	1+	3++	4	2=	1=	1—
186	4	1	0	0—1	1	0—1	0	4	4	1	0	1
225	3+	2+	2	2+	3+	3—	3	2+	2+	1	2—	2+

116, 176 e 225 sono nuove per l'Europa, mentre la 19 era già nota in Francia a PONCHET (1956), la 24 in Bulgaria a DODOFF (1934), in Germania ad HASSEBRAUK (1938), in Portogallo a D'OLIVEIRA (1934) e in Spagna a DE URRIES (1951) e la 186 in Francia a PONCHET (1956) ed in Spagna a DE URRIES (1951).

RIASSUNTO. La presente nota è divisa in tre parti. La prima prende in considerazione il lavoro già eseguito nell'anno 1953.

La seconda parte raccoglie i risultati delle identificazioni delle razze fisiologiche isolate nell'anno 1954, durante il quale sono state identificate le razze 11, 14, 16, 21, 34, 115, 207, 245 (R-B), 272 (R7), più altre quattro — 250 (R10), 251 (R11), 252 (R12) e 253 (R13) — che sono nuove per il mondo. La più frequente è la 21. Le razze 11, 14, 16, 34, 115 e 207 sono nuove per l'Italia, mentre le razze 11, 115 e 207 sono nuove anche per l'Europa.

La terza parte riporta il lavoro espletato nel 1955 che è rappresentato dalle razze 11, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 24, 34, 53, 57, 75, 98, 111, 116, 176, 186 e 225, più ventitrè razze, da 274 (R14) a 290 (R36) incluse, che sono nuove per il mondo. Anche quest'anno la razza più frequente è la 21. Le razze 19, 20, 24, 53, 57, 98, 111, 116, 176, 186 e 225 sono nuove per l'Italia mentre le razze 20, 53, 57, 98, 111, 176 e 225 sono nuove anche per l'Europa.

SUMMARY - The present article consists of three parts:

(1) A review of the results reported for the year 1952-1953.

(2) A report on the physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici* isolated from the Italian collections made during the year 1954. Among the 14 different races identified, only the following 4 had been previously isolated from Italian collection, namely, races 17, 21, 245 (R-B), and 272 (R7). Of the remaing 10 races, only races 11, 14, 16, 34, 115 and 207 had previously been reported in literature, while races 250 (R10), 251 (R11), 252 (R12) and 253 (R13) appear to be new not only in Italy but elsewhere.

(3) The results for the year 1955. Among the 41 different races identified, only the following 7 had been previously isolated by the authoresses from Italian collection, namely races: 11, 14, 16, 17, 21, 34 and 75, had previously been collected in Italy, while races 19, 20, 24, 53, 57, 98, 111, 116, 176, 186 and 225 appear to be new in Europa, and races 274 (R14), 290 (R36), appear to be new not only in Italy but elsewhere.

BIBLIOGRAFIA

BASILE R., LEONORI-OSSICINI A. e ROSA M., Identificazione di razze fisiologiche di *Puccinia graminis tritici* Erikss. et Henn. Nota II. « Ann. Speriment. Agr.», n.s., IX, Suppl. a. n. 4, I-IV, 1955.

DE URRIES M. J., Razas fisiologicas de *Puccinia graminis tritici* en España. « Labora* Micol. Jard. Botan. Madrid », Madrid, 1951.

DODOFF, D. N., Physiological forms of the wheat stem rust (*P. graminis tritici*) in Bulgaria. « Yearbook of the University of Sofia Faculty of Agriculture », XII, 334-365, 1954.

D'OLIVEIRA B., e SOUSSA, M. C. F., Raças fisiologicas de *Puccinia graminis* em Portugal. « Agronomia Lusitana », II, 243-252, 1940.

GARBOWSKI L., A study on the stem rust of wheat, *Puccinia graminis tritici* (Pers.) Erikss. et Henn. in Poland during the years 1933-37. « Prace wydz. chor. Szkodn. Rosl. panstw. Inst. nauk. Gosp. wiejsk », XVIII, 576, 1939.

GUSTAVSSON A., Fysiologiska raser av Strasädesrost i Sverige 1956. «Botaniska Notiser, CX, 3, 293-306, 1957.

HASSEBRAUK K., Untersuchunge über die physiologische Spezialisierung von *Puccinia graminis tritici* (Pers.) Erikss. Henn. und *Puccinia graminis avenae* (Pers.) Erikss. et Henn. in Deutschland und Sudeuropa. « Arb. Biol. Reichsanst. fur Land-und Forst.», XXII, 1, 65-70, 1936.

HASSEBRAUK K., Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung des weinzen-und Haferschwarz. rostes in Deutschland im Jahre 1937. « Arb. Biol. Reichsanst. für Land-und Forst.» XXII, 4, 479-482, 1938.

PONCHET J., Evolution et spécialisation du *Puccinia graminis tritici*. Erriks et Henn en France au cours de la période 1952-1954. « Ann. Épiph.», n. 2, 229-251, 1956.

SIBILIA C., Ricerche sulle ruggini dei cereali. VI. La specializzazione della *Puccinia graminis tritici* Erikss. et Henn. in Italia. « Boll. R. Staz. Pat. Veg. di Roma », n.s. XXI, 95-98, 1936.

Roberto Gigante

L'ARRICCIAMENTO DELLE FOGLIE BASALI DEL POMODORO

Nell'aprile del 1957 il prof. Acciarri, Direttore dell'Ispettorato Compartimentale dell'Agricoltura di Pescara, mi ha invitato ad eseguire un sopraluogo in alcune colture di pomodoro in serra, nella zona di Tortoreto, che presentavano un'alterazione poco comune, non ancora segnalata in Italia.

L'alterazione colpiva solamente la metà inferiore delle piante, mentre la metà superiore appariva perfettamente normale (fig. 1).



Fig. 1. — Parte inferiore di una pianta di pomodoro con arricciamento delle foglie basali.

Le piante malate presentavano le foglie irregolari, incurvate a cucchiaio (fig. 2), con manifestazioni di arricciamento dovute alla comparsa di aree in rilievo sulla pagina superiore, alle quali corrispondevano altrettante aree concave nella pagina inferiore. Non si notavano segni di Mosaico o di altri tipi di variegatura, per cui le foglie conservavano il loro colore verde normale. A volte si potevano osservare delle aree brune necrotiche, localizzate per lo più ai



Fig. 2. — Foglie di pomodoro che presentano l'incurvamento.

margini delle foglie. Alla pagina inferiore delle foglie si notava spesso un evidente ingrossamento in tratti più o meno estesi del nervo mediano e delle nervature laterali (fig. 3). Un carattere costante delle foglie alterate era la loro particolare fragilità, per cui si spezzavano con estrema facilità nella regione della lamina o nei piccioli, quando si cercava di piegare la foglia. La fragilità delle foglie e dei picciuoli è un carattere frequente in diverse virosi, come per esempio la Striatura della patata.

Per appurare se l'alterazione presentata dalle piante di pomodoro si dovesse considerare una virosi o meno sono state inoculate piante di pomodoro sane. L'inoculazione è stata eseguita strofinando leggermente, con un dito bagnato nel succo estratto dalle piante alterate, le foglie delle piante sane cosparse con polvere finissima di carboroundum. Una settimana dopo l'inoculazione sono comparsi i primi sintomi, consistenti in una leggera bollosità



Fig. 3. — Foglie di pomodoro a destra con ingrossamento delle nervature, a sinistra con necrosi marginale.

delle foglie. Quindici giorni dopo l'inoculazione i sintomi risultavano molto evidenti, del tutto simili a quelli osservati sulle piante delle serre di Tortoreto e consistevano nell'arricciamento, nel ripiegamento dell'apice e dei margini fogliari verso il basso, nella comparsa di aree necrotiche ai margini e nella fragilità del lembo e del picciolo (fig. 4). Anche nelle piante infettate artificialmente i sintomi della malattia erano visibili solamente sulle foglie basali. Le foglie della metà superiore delle piante non presentavano invece alcuna anomalia.

Accertato che l'alterazione delle foglie di pomodoro era una manifestazione da virosi, era necessario indagare quale fosse il virus responsabile della malattia. Sono state quindi eseguite inoculazioni in piante sane di *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium* e *Phaseolus vulgaris*. Anche in questi casi l'infezione è stata eseguita come nelle piante di pomodoro.



Fig. 4. — Pianta di pomodoro inoculata con il succo infettivo.

Nicotiana Tabacum.

Sulle foglie di tabacco delle varietà «White Burley» e «Erzegovina », cinque giorni dopo l'inoculazione, sono comparse delle minute lesioni locali sotto forma di areole verdi chiare puntiformi (fig. 5). In rari casi si è notata la comparsa di qualche lesione locale necrotica. Le lesioni locali sono comparse solamente su 3 delle 10 piante della var. « White Burley » inoculate e su 2 delle 10 piante di « Erzegovina ». Da dieci a quindici giorni dopo l'inoculazione sono apparsi sintomi evidenti di Mosaico su tutte le piante di tabacco inoculate. In seguito, oltre al Mosaico, sono comparse bollosità molto marcate che rendevano le foglie irregolari e spesso deformi.

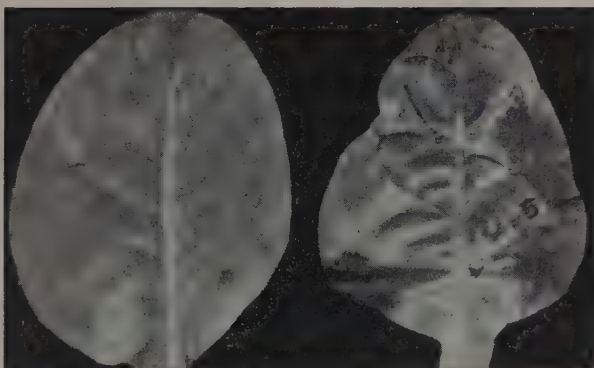


Fig. 5. — Foglie di tabacco con lievi lesioni locali.

In conclusione, nelle foglie di tabacco delle varietà « White Burley » ed « Erzegovina », il virus ha prodotto occasionalmente lievissime lesioni locali, a volte appena percettibili e, come manifestazione generale e costante, Mosaico, accompagnato da bollosità e da deformazioni fogliari (fig. 6).

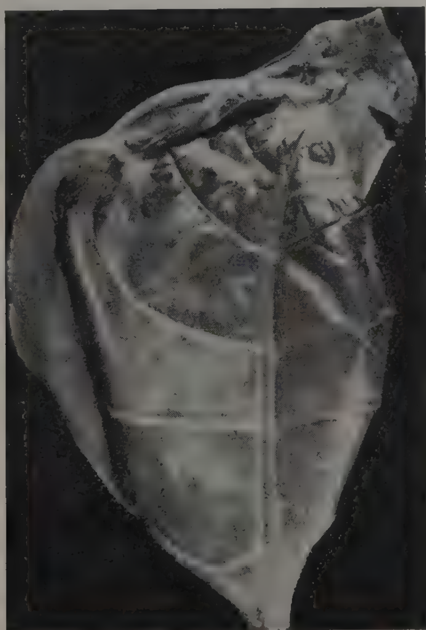


Fig. 6. — Foglia di tabacco con mosaico bolloso.

Nicotiana glutinosa.

Sulle foglie delle piante di *Nicotiana glutinosa*, due giorni dopo l'inoculazione erano già chiaramente visibili delle macchie necrotiche di color bruno, per lo più circolari, circondate da un distinto margine rossastro (fig. 7). Dopo alcuni giorni le macchie necrotiche diventavano più numerose e marcate, però rimanevano strettamente localizzate nelle foglie inoculate. Il numero delle lesioni osservate nelle piante di *Nicotiana glutinosa* era variabile da 20-30 a 100 ed anche più per foglia. Nelle piante trattate non è stato osservato alcun caso di infezione sistemica.

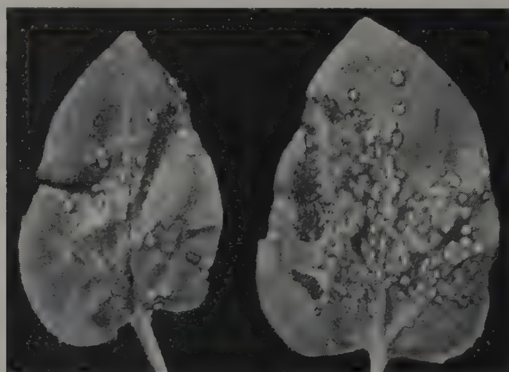


Fig. 7. — Foglie di *Nicotiana glutinosa* con lesioni locali necrotiche.

Datura stramonium.

Anche in questa pianta ospite i sintomi sono apparsi solamente sulle foglie inoculate e non è stato osservato nessun caso d'infezione sistemica. Cinque giorni dopo l'inoculazione si notavano le prime lesioni locali, sotto forma di aree di colore bruno tendente al rossastro, per lo più regolari, di 1-2 mm. di diametro. Dopo alcuni giorni queste aree brunastre diventavano più estese, fino a raggiungere 3-4 mm. di diametro, mentre al loro centro appariva una piccola area circolare più chiara (fig. 8). Il numero delle lesioni locali in *Datura stramonium* si è sempre mantenuto nettamente inferiore a quello osservato in *Nicotiana glutinosa*; infatti era per lo più compreso fra 10 e 30 per foglia.

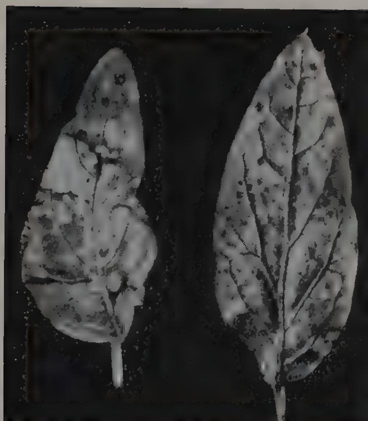


Fig. 8. — Foglie di *Datura stramonium* con lesioni locali.

Phaseolus vulgaris.

Nelle foglie di fagiolo inoculate con il succo delle foglie di pomodoro malate sono stati osservati due tipi di sintomi e precisamente lesioni necrotiche locali e Mosaico.

Le lesioni locali non rappresentano un sintomo caratteristico poichè non si formano costantemente dopo l'inoculazione, ma compaiono solo in qualche pianta. Anche nella stessa pianta, non tutte le foglie inoculate presentano le lesioni locali, ma due o tre al massimo. Le lesioni locali si presentano come minutissime areole puntiformi brune, disseminate sulla lamina e possono comparire in numero limitato, ma per lo più sono molto numerose. In qualche raro caso sulle foglie di fagiolo inoculate sono comparse delle necrosi lungo tratti più o meno estesi delle nervature, visibili alla pagina inferiore (fig. 9).

Il Mosaico rappresenta il sintomo caratteristico sul fagiolo poichè esso si è manifestato indistintamente su tutte le piante inoculate, circa due settimane dopo l'inoculazione. La prima manifestazione del Mosaico sulle foglie di fagiolo consiste nella comparsa di aree di color verde, leggermente più chiare del normale, decorrenti fra le nervature laterali. In seguito le aree clorotiche diventano più distinte, assumendo una tinta giallastra, mentre i tratti di lamina in corrispondenza delle nervature mantengono il loro colore verde normale (fig.10). Negli stadi più avanzati dell'in-

fezione tutte le foglie, sia quelle inoculate che quelle non inoculate presentano i sintomi di Mosaico. Nel caso del fagiolo si assiste dunque ad un tipico esempio di infezione sistemica.

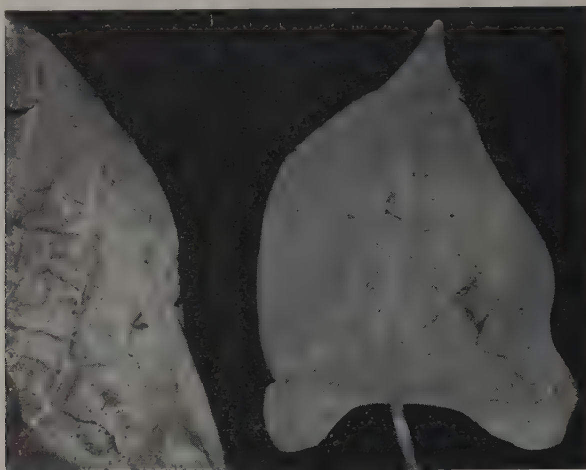


Fig. 9. — Foglie di fagiolo con lesioni locali (sinistra) e con necrosi nervale (a destra).

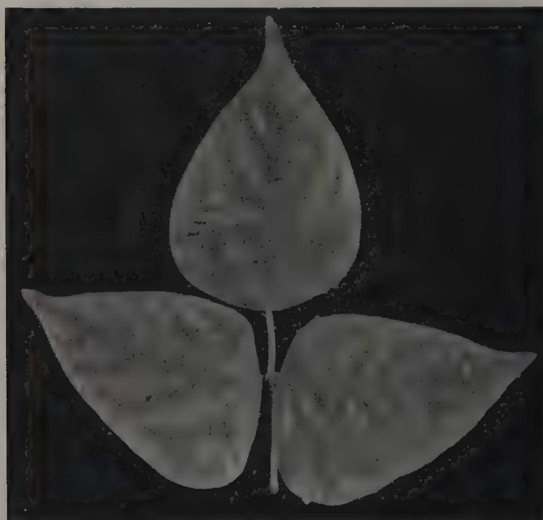


Fig. 10. — Foglia di fagiolo con mosaico internervale.

Il quadro dei sintomi comparsi in seguito all'inoculazione delle diverse piante indicatrici è riassunto nella seguente tabella.

Infezione	*Nicotiana tabacum*		*Nicotiana glutinosa*	*Datura stramonium*	*Phaseolus vulgaris*
	W. Burley	Erzegovina			
locale	(m.n.)	(m.n.)	m.n.	m.n.	(m.n.)
sistemica	M	M	—	—	M

m.n. = macchie necrotiche. M = Mosaico; le sigle fra parentesi indicano manifestazioni occasionali.

Proprietà del virus.

Allo scopo di studiare le proprietà del virus che produce l'arricciamento basale del pomodoro, sono state inoculate, con il succo estratto dalle foglie di pomodoro malate, 30 piante di tabacco della varietà « White Burley », onde poter disporre di una quantità di succo sufficiente per effettuare le prove sotto riportate.

Temperatura d'inattivazione.

Per la determinazione della temperatura alla quale il virus viene inattivato, si è proceduto nel modo seguente: una provetta contenente acqua distillata è stata posta in un bagnomaria che veniva portato alla temperatura desiderata. Quando l'acqua della provetta aveva raggiunto la temperatura del bagnomaria (ciò che è stato possibile rilevare mediante un termometro il cui bulbo era immerso nell'acqua distillata della provetta), veniva eliminata e sostituita con il succo infetto. Questo succo, raggiunta la temperatura del bagnomaria, veniva mantenuto in questo ancora per 10 minuti, quindi veniva tolto, raffreddato ed usato per le inoculazioni. Le temperature saggiate per la ricerca della temperatura d'inattivazione del virus sono state le seguenti: 30°C., 40°C., 50°C., 60°C., 70°C., 80°C., 90°C., 95°C. L'esposizione per 10 minuti alle temperature da 30°C. a 90°C. non ha causato alcun disturbo sulla proprietà infettiva del virus. L'esposizione per 10 minuti alla temperatura di 95°C. ha avuto come conseguenza

l'inattivazione completa del virus. Infatti il succo tenuto per 10 minuti alla temperatura di 95°C., inoculato in foglie di *Nicotiana glutinosa*, non ha prodotto su queste nessuna lesione locale, nè alcun altro sintomo di virosi: le foglie inoculate sono rimaste inalterate. La temperatura d'inattivazione del virus è quindi compresa fra 90°C. e 95°C.

Diluizione.

Il succo contenente il virus è stato diluito, con acqua distillata bollita, nelle proporzioni di 1 : 1, 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 100.000, 1 : 1.000.000. Ciascun campione del succo diluito è stato quindi usato per praticare le inoculazioni su foglie di piante di *Nicotiana glutinosa*. Il succo infetto, portato alle diluizioni sopra elencate ha sempre prodotto le lesioni locali sulle foglie di *N. glutinosa*; anche le foglie delle piante inoculate con il succo infetto portato alla diluizione di 1 : 1.000.000 hanno presentato lesioni locali ben evidenti, in numero variabile da 20 a 30. Da ciò risulta che il virus conserva quasi inalterato il suo potere infettivo alla diluizione di 1 : 1.000.000 e quindi il punto di diluizione limite è raggiunto da diluizioni superiori a 1 : 1.000.000.

Longevità in vitro.

Il succo contenente il virus, tenuto asetticamente entro provette di vetro alla temperatura ambiente, intorno a 25°C., ha conservata inalterata la sua capacità infettiva fino a tuttoggi. Il virus si è quindi mantenuto attivo in vitro, per oltre cinque mesi, senza nessun accenno ad una diminuzione della sua capacità infettiva. È molto probabile che il virus rimanga ancora attivo in vitro dopo periodi ben più lunghi di cinque mesi.

Microscopia elettronica.

Per poter stabilire la forma delle particelle del virus che proproduce l'arricciamento basale del pomodoro, si è ricorso alla fotografia mediante il microscopio elettronico. Il succo estratto dalle foglie di pomodoro malate è stato sottoposto alla purificazione eseguita con il metodo usato presso il Laboratorio di virologia dell'Istituto di ricerche per le malattie delle piante di Wageningen. Previo riscaldamento, per far precipitare i cloroplasti, i frammenti vegetali ed altre impurità grossolane, il succo veniva sottoposto a successive centrifugazioni, precipitazioni con solfato

d'ammonio e dialisi fino a che si otteneva il virus allo stato relativamente puro. La tecnica per la purificazione del virus producente l'arricciamento basale del pomodoro è stata uguale a quella seguita nella purificazione del virus del Mosaico del tabacco, descritta in una mia precedente nota (1955).

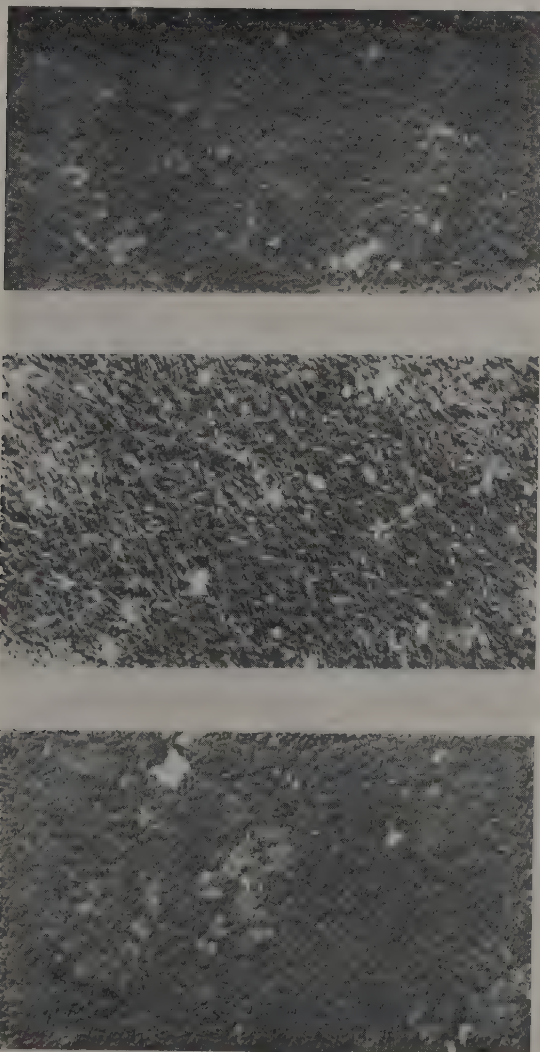


Fig. 11. — Fotografie del virus dell'arricciamento delle foglie basali del pomodoro ottenute con il microscopio elettronico.

La sospensione purificata del virus venne quindi sottoposta all'osservazione con il microscopio elettronico dell'Istituto Superiore di Sanità. La microscopia elettronica ha dimostrato che le particelle di questo virus risultano a forma di bastoncino, come quelle del virus del Mosaico del tabacco. La figura 11 rappresenta i microfotogrammi elettronici del virus dell'arricciamento delle foglie basali del pomodoro.

Considerazioni sul virus dell'arricciamento delle foglie basali del pomodoro.

Considerando i sintomi che il virus studiato produce sulle piante indicatrici impiegate nelle prove d'infezione, risulta che questi, in gran parte, corrispondono alle manifestazioni indotte nelle medesime piante dal virus del Mosaico del tabacco.

Per quanto riguarda i sintomi che compaiono dopo l'inoculazione sulle foglie di pomodoro, questi si discostano nettamente da quelli prodotti dal virus del Mosaico del tabacco. Infatti, il virus del Mosaico del tabacco provoca sulle foglie di pomodoro un Mosaico, spesso irregolarità e deformazioni del tipo della laciniatura felciforme, mentre non si nota alcun accenno di necrosi nei fusti e nelle foglie. Nelle foglie di pomodoro inoculate con il virus dell'arricciamento delle foglie basali del pomodoro, si nota un arricciamento, l'incurvamento dei margini e dell'apice fogliare verso il basso, la formazione di aree necrotiche in corrispondenza dei margini e la rigidità vitrea delle foglie.

In *Nicotiana glutinosa* ed in *Datura stramonium* l'inoculazione del virus è seguita dalla comparsa di lesioni locali necrotiche, molto evidenti, sulle foglie. Le stesse manifestazioni sono prodotte, in tali piante, dal virus del Mosaico del tabacco.

In *Nicotiana tabacum* il virus produce, in casi eccezionali, la comparsa di lesioni locali, mentre causa costantemente il Mosaico, accompagnato da bollosità delle foglie, analogamente a quanto produce il virus del Mosaico del tabacco.

Nelle foglie di *Phaseolus vulgaris* il virus provoca, occasionalmente, la comparsa di minutissime lesioni locali necrotiche ed eccezionalmente necrosi delle nervature, mentre produce costantemente un Mosaico internervale, visibile, molto chiaramente, negli stadi più inoltrati dell'infezione. In questa pianta indicatrice il virus del Mosaico del tabacco causa costantemente lesioni locali. Nel fagiolo, quindi, il comportamento del virus studiato nella pre-

sente nota è nettamente diverso da quello del virus del Mosaico del tabacco. A questo proposito è interessante notare che LISTER e THRESH (1955) hanno studiato un ceppo del virus del Mosaico del tabacco che produce sintomi sistemici di Mosaico in *Phaseolus vulgaris*.

Le proprietà del virus che produce l'arricciamento delle foglie basali del pomodoro, cioè temperatura d'inattivazione, limite di diluizione e possibilità di mantenersi a lungo attivo nel succo estratto dagli organi delle piante malate, corrispondono a quelle del virus del Mosaico del tabacco.

In base ai sintomi prodotti sulle piante indicatrici, alle proprietà fisiche ed alla osservazione mediante il microscopio elettronico, si può concludere che l'arricciamento delle foglie basali del pomodoro è causato da un ceppo del virus del Mosaico del tabacco.

RIASSUNTO. È descritta una virosi, osservata in piante di pomodoro tenute in serra, caratterizzata dalla bollosità, dall'incurvamento e dalla rigidità delle foglie. I sintomi compaiono solamente sulle foglie basali, mentre le foglie apicali si mantengono normali. La malattia è stata trasmessa alle piante di pomodoro mediante l'inoculazione. Sulle foglie di tabacco il virus produce occasionalmente lesioni locali e costantemente infezione sistemica sotto forma di Mosaico e deformazioni fogliari; sulle foglie di fagiolo produce occasionalmente minute lesioni locali necrotiche e, sempre, Mosaico internervale sistemico; su *Nicotiana glutinosa* e *Datura stramonium* provoca lesioni locali necrotiche sulle foglie. Il virus sopporta diluizioni di 1/1.000.000, è inattivato da temperature comprese tra 90°C. e 95°C. e può essere conservato in vitro per diversi mesi. Le particelle del virus hanno forma di bastoncini allungati come il virus del Mosaico del tabacco. L'arricciamento basale delle foglie di pomodoro è causato da un ceppo del virus del Mosaico del tabacco.

SUMMARY. A virus disease of tomato plants, characterized by the leaf curling, the bending down and the rigidity of the leaves, is described. The symptoms appear only on the lower leaves, while the upper ones remain normal. The disease has been transmitted to healthy tomato plants by the sap. On tobacco leaves the virus produces occasionally small local lesions and constantly sistemic mosaic. *Nicotiana glutinosa* and *Datura stramonium* react with formation of necrotic local lesions. On the leaves of *Phaseolus vulgaris*, infection is followed occasionally by small necrotic lesions and constantly by internerval mosaic. The virus gives good infection to the dilution of 1:1.000.000, its termo-inactivation point is included between 90°C. and 95°C. The virus is capable to retain its infectivity for several months. The particles of the virus here studied are rod-shaped, like the particles of the tobacco mosaic virus. The virus causing basal leaf curling of tomato may be considered as a strain of the tobacco mosaic virus.

BIBLIOGRAFIA

GIGANTE R., *Microscopia elettronica del virus del mosaico del tabacco.* « Boll. Staz. Pat. Veg. », III S., XIII, 111-116, 1955.

HOLMES F. O., *Symptoms of tobacco mosaic disease.* « Contrib. Boyce Thomp. Inst. », IV, 323-357, 1932.

HOLMES F. O., *Accuracy in quantitative work with tobacco mosaic virus.* « Bot. Gaz. », LXXXVI, 66-81, 1928.

KLINKOWSKI M. und KOLER E., *Viruskrankheiten,* in Sorauer P. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. II, 6 Aufl., 1 Lief., 1954.

LISTER R. M. and THRESH J.M., *A mosaic disease of leguminous plants caused a strain of tobacco mosaic virus.* « Nature », CLXXV, 1047-1048, 1955.

PRICE W. C., *Local lesions on bean leaves inoculated with tobacco mosaic virus.* « Amer. Journ. Bot. », XVII, 694-702, 1930.

VERONA O. e TREGGI G., *Una non comune virosi del pomodoro.* « Memorie Ist. Patol. Veg. Univ. Pisa », n. 340, 1956.



Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste

CENTRO STUDI PER LA PATATA

presso l'ISTITUTO DI ALLEVAMENTO VEGETALE PER LA CEREALICOLTURA in Bologna

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
in ROMA

ROBERTO GIGANTE

LA SITUATION DES MALADIES PROVOQUÉES PAR LES VIRUS DES POMMES DE TERRE EN ITALIE

Roberto Gigante

LA SITUATION DES MALADIES PROVOQUÉES PAR LES VIRUS DES POMMES DE TERRE EN ITALIE (*)

Le problème des maladies à virus des pommes de terre est devenu en Italie particulièrement sérieux tout de suite après la deuxième guerre mondiale. En effet, pendant la guerre, l'activité du Service phytopathologique a été reduite, à cause des nombreux techniciens appelés sous les drapeaux, de sorte que le contrôle des cultures ne put pas être exécuté avec la sévérité nécessaire et, d'autre part, pour des circonstances accidentelles, on fut obligé d'importer du matériel ne correspondant pas toujours aux qualités requises. Pour ces raison, les cultures de pommes de terre ont empiré d'année en année, tandis que les viroses se propageaient de façon impressionante. Etant donné qu'il était toujours plus difficile d'importer de l'étranger des quantités considérables de plants de pommes de terre, soigneusement sélectionnés, on dut avoir recours dans la plupart des cas, à du matériel reproduit depuis plusieurs années en Italie et désormais peu apte aux exigences, qui n'avait pas été renouvellé depuis 1941. Cet état de choses se poursuivit jusqu'à 1947, en provoquant une situation vraiment grave dans le secteur des pommes de terre de semence.

On dut alors faire face avec urgence au problème de l'amélioration, par tous les moyens possibles, de la production des plants de pommes de terre en Italie, visant à ramener à la perfection atteinte pendant les années d'avant guerre. Pendant les susdites années on avait créé des Centres de Multiplication des pommes de terre, avec le but de fournir un excellent produit pour l'ensemencement, soit au point de vue de la productivité qu'à celui phytosanitaire. Les Centres de multiplication, en adoptant des justes critères de selection en plein champ, avaient réussi à obtenir des cultures de pommes de terre de haute productivité et presque

(*) Relation présentée à la III Conférence pour les Maladies provoquées par le Virus des Pommes de terre - Lisse, Wageningen 24-27 juin 1957.

complètement indemnes de toute virose. En effet, dans cette période la les plantes frappées par des viroses, dans les cultures appartenant aux Centres de multiplication, ne dépassaient pas 1%. Le contrôle des plants de pommes de terre en Italie a été institué grâce à l'initiative du Docteur Giulio Catoni de Trente, qui depuis 1934 jusqu'à 1950, année pendant laquelle il mourut, consacra la plupart de son activité au problème de l'amélioration de pommes de terre. C'est à lui qu'on doit les premiers cours pour contrôleurs des plants de pommes de terre et son œuvre diligente et disintéressée a apporté une contribution considérable à la culture des pommes de terre en Italie.

Dans les années qui suivirent immédiatement la guerre la situation des plants de pommes de terre dans notre pays a traversé, comme il a été dit plus haut, une crise très grave, et il était difficile, dans cette période-là, de trouver des stocks de pommes de terre à bas pourcentage de viroses. Nos cultures d'ensemencement ne présentaient plus presque aucune différence avec celles locales pour la consommation, en voie avancée de dégénération. Il était rare de trouver des cultivateurs qui exécutassent les contrôles, et par conséquent le matériel destiné à la plantation était devenu de deuxième qualité et même la pureté en était sérieusement compromise.

En 1947, à la suite de l'initiative de quelques producteurs de pommes de terre, très préoccupés de l'état dans lequel se trouvaient nos cultures, on commença un travail de selection très rigoureux, visant à améliorer, en tant que possible, la production des plants de pommes de terre. Cet exemple louable fut suivi pendant les années successives, par d'autres cultivateurs et on commença ainsi, à réorganiser, peu à peu, même le service de contrôle des cultures de plants de pommes de terre, qui tout d'abord était exécuté directement par les producteurs intéressés. Ensuite, ce contrôle fut exécuté d'après les directives des Inspectorats Provinciaux de l'agriculture et par le Service Phytopathologique.

Les résultats de cette œuvre d'amélioration de la production des plants de pommes de terre ne furent pas d'abord très remarquables parce que, pendant les premières années, les arrachages ne purent pas être exécutés avec la rigueur adoptée ensuite, aussi à cause du fait que le matériel d'ensemencement provenant de l'étranger donnait souvent des résultats peu satisfaisants. Dans les cultures obtenues avec les tubercules importés,

on remarquait des nombreux manques et aussi le pourcentage des plantes frappées par des viroses était élevé : c'est à dire de 10% à 30%, et parfois même davantage. Même dans les meilleures cultures, le pourcentage des plantes malades n'était pas moins de 5%-10%. Les viroses les plus fréquentes étaient l'Enroulement, la Bigarrure (virus Y) et la Mosaïque rugueuse (virus X + virus Y).

La plus grande difficulté d'obtenir des cultures indemnes de viroses était représentée justement par l'état phytosanitaire du matériel d'ensemencement provenant de l'Etranger, qui ne donnait plus des garanties suffisantes pour une bonne réussite. L'achat de stocks de plants de pommes de terre à l'étranger, représentait à ce moment-là un vrai risque pour le cultivateur qui, en cas de mauvaise réussite des cultures, devait subir des pertes remarquables. Malgré ces graves inconvenients, les travaux de selection en champ se poursuivirent et on a remarqué une lente mais constante amélioration des cultures. Au cours des années successives on a pu obtenir des resultats vraiment satisfaisants, de sorte qu'on est arrivé à des cultures de plants de pommes de terre excellents, soit au point de vue de la production qu'à celui de la santé. Grâce à l'activité des Centres de Multiplication, sous les directives du Centre d'étude pour les pommes de terre, il a été possible de garder, dans les nombreuses cultures de plants de pommes de terre, des pourcentages de virose ne dépassant pas 1%. Aussi le matériel pour l'ensemencement provenant de l'étranger entretemps, est beaucoup amélioré et les stocks provenant des Pays Bas resultèrent particulièrement aptes.

De ce qui a été exposé ci-dessus, on peut facilement comprendre que le travail d'amélioration des pommes de terre, tout de suite après la guerre, a été chez nous particulièrement difficile et laborieux, soit à cause du matériel de semence étranger souvent inapte, soit pour la grande diffusion de nombreuses maladies causées par differents virus dans la plupart des cultures de pommes de terre.

Les premières observations sur les maladie à virus des pommes de terre en Italie remontent à 1912, et dans un premier moment on signala seulement l'enroulement et la Mosaïque et ensuite aussi la *Frisolée* : connue chez nous comme Arricciamento avec ce dernier nom on désignait toutes les manifestations accompagnées par des boursouflures, indépendemment du virus ou des

virus qui les causaient. On indiquait par conséquent comme *Enroulement* aussi des viroses tout à fait différentes telles que la Mosaïque rugueuse (Virus X + Virus Y), le *Crinkle* (Virus X + + Virus A), la Bigarrure (froncement de la feuille avec ou sans les symptômes de Mosaïque ou de nécrose des nervures et de la tige : Virus Y).

D'abord les viroses ont été observées seulement sur les variétés étrangères, tandis que les variétés italiennes paraissaient indemnes. Ensuite, cependant, on a pu observer que même les variétés italiennes étaient très facilement attaquées par les susdites maladies. Aujourd'hui plusieurs variétés italiennes sont tellement dégénérées que sous peu on ne pourra plus les cultiver, tandis que d'autres variétés locales sont tout à fait disparues. En conclusion, les viroses frappent sans distinction soit les variétés etrangères que les variétés locales et chez nous on a signalé plusieurs virus entre les plus propagés dans les pays où on cultive les pommes de terre sur une vaste échelle. Parmi ces viroses on a signalé l'Ebroulement, la Mosaïque rugueuse (virus X + virus Y) la *Frisolée* (Crinkle : virus X virus A) la Necrose acropeta ou Bigarrure (virus Y), la Panachure (virus G), différentes formes encore de Mosaïque, (virus X, virus Y, virus A) la Mosaïque jaune (virus de la luzerne).

L'identification des différents virus a été exécutée d'abord avec la méthode des plantes indicatrices et ensuite, pendant les deux dernières années, avec la methode sérologique. Pour le moment nous possedons les anti-sérums de deux viroses des pommes de terre et précisement l'anti-sérum X « lioplylité » et l'anti-sérum Y. Nous possedons en plus un anti-sérum polyvalable (anti-sérum X + Y).

L'activité du Centre d'Etudes pour les pommes de terre, en ce qui concerne le problème des plants de pommes de terre se déroule surtout dans le contrôle des stocks de pommes de terre provenant de l'étranger, et dans le contrôle des cultures en plein champ. Pour vérifier l'état phytosanitaire des stocks de plants de pommes de terre en prélève un échantillon de chaque stock, à la gare de frontière. Une partie de l'échantillon est envoyée a un Institut d'Expérimentation pour les essais du tubercule-test en serre et pour les essais sérologiques, tandis qu'une partié est confiée à d'autres Instituts pour les essais en plein champ. Avec les essais du tubercule-test on peut juger assez exactement l'état sanitaire du stock, surtout en ce qui concerne les viroses. L'Enroulement,

la Bigarrure, la Panachure peuvent être identifiés du premier coup, tandis pour les différents types de Mosaique, pour l'Enroulement et d'autres manifestations, il est nécessaire d'avoir recours aux plantes indicatrices et aux essais au moyen de sérums. Déja grâce à ces essais en serre et en laboratoire, il est possible d'établir l'état sanitaire de différents stocks provenant de localités diverses, d'identifier les différentes viroses et déterminer les pourcentages. Les résultats obtenus au moyen des essais susmentionnés sont ensuite comparés avec ceux des essais correspondants en plein champ ; jusqu'ici les résultats de deux séries d'essais sont toujours tombés d'accord. Il est donc possible de se rendre compte de la bonté ou moins de stocks de plants de pommes de terre dans un mois depuis l'arrivée à destination de l'échantillon prélevé à la frontière.

Ces essais ont aussi démontré qu'en général, le matériel pour l'ensemencement provenant de l'étranger a beaucoup ammélioré pendant les dernières années, tout en ne pouvant pas nier que parfois il nous parvient de certains pays des stocks de plants de pommes de terre bien peu satisfaisants.

Les variétés de pommes de terre les plus cultivées en Italie et importées par conséquent en plus grande quantité sont les suivantes : Ronde de Berlin (Böhm's Allerfruheste gelbe) Majestic, Sieglinde, Bitje, Bona, Kennebec, Krasava. Aujourd'hui, plusieurs parmi les plus grands cultivateurs des plants de pommes de terre exécutent le contrôle des stocks qu'ils produisent au moyen d'essais de morceaux ou par l'ensemencement anticipé dans des zones appropriées, pratique que corresponde au « Florida test » des Américains. Avec ces méthodes et avec les essais au moyen de sérums, il est possible de déterminer l'état sanitaire des stocks et par conséquent le producteur peut connaître à l'avance la valeur effective du matériel pour l'ensemencement, et éviter, en cas de résultats négatifs, le placement de la marchandise défectueuse.

On a commencé aussi le contrôle phytosanitaire des échantillons des tubercules appartenant à des vieillies variétés autrefois appréciées, qui présentent aujourd'hui un pourcentage élevé de viroses, telles que la Albona, la Blanche de la Basilicate, et autres. En premier lieu il s'agit d'établir si ces variétés sont éventuellement les vecteurs de quelques virus, et en cas de résultat positif, en supprimer la culture. Si cela n'est pas le cas, on tachera de soumettre la variété à un travail rigoureux de selection ou de

régénération, pour la ramener à l'état de santé qu'elle avait à l'origine.

Dans le domaine de la génétique aussi, par les soins du Centre d'études pour les pommes de terre, on tâche d'obtenir des variétés qui, en plus des qualités agronomiques, présentent aussi un haut dégré de résistance aux viroses ou du moins à certaines viroses. On a déjà obtenu des résultats satisfaisants dans ce sens, et les recherches se poursuivent vivement.

En conclusion de ce qui a été exposé ci-dessus, on peut dire qu'en Italie l'état sanitaire des cultures de plants de pommes de terre, qui immédiatement après la guerre était désastreux en dix ans a fait des progrès remarquables. Grâce à l'amélioration graduelle du matériel pour l'ensemencement provenant de l'étranger et de celui produit en Italie, et grâce au travail soigneux de régénération et de selection dans les cultures des Centres de Multiplication, nous sommes réussis à assurer aujourd'hui une production de plants de pommes de terre, qui en plusieur cas, peut être considérée pareilles aux meilleurs stocks fournis par les pays étrangers.

Vincenzo Grasso

GENETICA DEI CARBONI DELL'AVENA. ULTERIORI INDAGINI SUL FENOMENO DELLA LETALITA' PARZIALE E TOTALE DI UNA COLLEZIONE DI *USTILAGO KOLLERI* DA PARMA (*)

In Note precedenti (Grasso 1954, 1955) ho messo in rilievo, in un carbone dell'avena proveniente da Parma, la presenza di un peculiare fenomeno: quello della semiletalità. Esso consiste nel fatto che isolando dal basidio di ogni clamidoconidio le quattro basidiospore poste nelle posizioni a-b-c-d- e coltivandole su di un comune substrato, per es. agar-patata-destrosio, due si moltiplicano e due no. Inoltre, appaiando su acqua agarizzata le basidiospore delle colonie accresciute, in combinazioni intra e interspecifiche, non si hanno né fusioni né il relativo sviluppo di ife aeree, per cui in complesso tale carbone mostra un solo gruppo sessuale (**).

Tale fenomeno è abbastanza raro poichè i carboni delle piante finora studiati, per la maggior parte presentano due gruppi sessuali (***). Esso fu da me studiato per la prima volta nel 1953, quando mi recai negli U.S.A. sempre negli Istituti di Patologia vegetale dell'Università del Minnesota in St. Paul ed in quello di Pullman, godendo di una borsa di studio concessa dal Consiglio

---

(*) Ricerche eseguite presso l'Istituto di Patologia vegetale della Università del Minnesota - St. Paul e in quello del Washington State College-Pullman, durante gli anni 1954-55 mentre usufruivo di una missione di studio concessami dalla National Academy of Sciences di Washington tramite l'O.E.C.E., il C.I.R. e la Foreign Operation Administration (F.O.A.).

(**) Da una comunicazione avuta dal Dr. Holton nell'Aprile 1957 e da quanto risulta dalla recente letteratura (Holton and Dietz 1957), il fenomeno della semiletalità nei carboni dell'avena è stato rinvenuto anche nel Washington.

(***) Per una revisione generale di tale argomento si può consultare il lavoro di Whitehouse (1951) nel quale si sostiene che quasi tutti i carboni studiati presentano in genere solo due gruppi sessuali. Tale concetto mi pare non sia pienamente condiviso da Fischer e Holton (1957).

Nazionale delle Ricerche, abbinata ad un viaggio Fulbright. Nel 1954 avendo di nuovo l'occasione di tornare in questi Istituti, riprendevo a studiare il fenomeno.

A tale scopo esaminavo sia il materiale originario, raccolto a Parma nel 1952, che ancora era germinabile, sia quello ottenuto dalla sua moltiplicazione nella primavera-estate 1953 in un campo sperimentale di Pullman. Tale operazione era stata eseguita infettando cariossidi di avena cv. Anthony in una sospensione di clamidoconidi, sottoposte al vuoto. Come ho detto nella Nota del 1954 ottenevo un'alta percentuale di spighe infette per cui avevo a mia disposizione abbondantissimo materiale di studio.

Quantunque per le mie precedenti note avessi esaminato molto materiale, facendo cioè numerosi isolamenti monobasidiosporici, tuttavia mi sorgeva il dubbio che ciò non fosse sufficiente per farmi concludere che mi trovavo realmente di fronte ad un fenomeno di semiletalità. Difatti poteva darsi che casualmente avessero tale comportamento soltanto quei clamidoconidi da me esaminati e non la massa. Quindi riprendevo a fare molti isolamenti monobasidiosporici, staccando le quattro basidiospore da ciascun clamidoconidio nelle note posizioni e tentando di coltivarle su agar-patata-destrosio ; ma anche in questi casi constatavo che il fenomeno si ripeteva constantemente. Inoltre facevo delle prove, direi massali, nelle quali adoperavo molti clamidoconidi. Così dopo aver preparato delle capsule Petri con agar-patata-destrosio, con l'ansa opportunamente sagomata, vi spargevo in superficie tanti clamidoconidi da costituire un sottilissimo strato. Quando essi avevano germinato e le basidiospore sviluppate avevano costituito uno strato bianco lucente e ben visibile ad occhio nudo, con l'ansa ne trasferivo una piccola quantità in un'altra capsula con acqua agarizzata diradandole molto bene. Come è noto le basidiospore di sesso opposto su acqua agarizzata si fondono e danno origine ad ife aeree fertili ; quindi se nella massa delle basidiospore fossero esistite quelle con sesso opposto, esse si sarebbero fuse formando ife aeree. Ma nonostante le numerose prove fatte, trasferendo ed esaminando molti gruppi di basidiospore, non riuscivo ad intravedere nessuna fusione sicura e tanto meno delle ife aeree.

Qualche volta tra alcune coppie di basidiospore si osservavano delle fusioni, senza la relativa formazione delle ife aeree : si aveva cioè solo una plasmogamia, senza la conseguente cariogamia :

trattavasi allora di una falsa fusione. Oppure si notava la comparsa di ife aeree che a prima vista sembravano vere, cioè provenienti dalla fusione di due basidiospore, ma esaminate attentamente, si notava che esse si originavano dalla germinazione di una sola basidiospora : in questo caso trattavasi di false ife aeree. Come è stato dimostrato dalla maggior parte di coloro che si sono occupati della genetica dei carboni dei cereali, ed anche da me in prove di campo e di serra presso l'Università del Minnesota nel 1953, tali ife sono sterili poichè da sole non possono infettare le piante di avena. D'altra parte, sebbene il loro aspetto in coltura sia alquanto dissimile da quello delle vere, tuttavia è molto difficile distinguere con sicurezza le une dalle altre. Le ife aeree fertili fin dal loro primo sviluppo si accrescono rasenti al substrato da cui poi si innalzano quasi verticalmente : dopo 24-30 ore si ripiegano su loro stesse, si attorcigliano ed infine costituiscono un fitto groviglio di elementi che si svilupano in ogni direzione. Le ife aeree sterili invece sono molto esili, hanno un andamento prevalentemente strisciante e nè si accrescono molto, ma rimangono rade per cui infine non costituiscono mai un fitto groviglio.

Mentre la robustezza delle ife, il loro sviluppo, il portamento aereo o strisciante possono avere una differente interpretazione, l'elemento indiscutibile per giudicare se una ifa aerea è vera o falsa è l'osservarne il punto di origine : se cioè essa provenga o meno dalla fusione di una coppia di basidiospore. Questa è la ragione per cui quando si disseminano le basidiospore sull'acqua agarizzata, è sempre consigliabile metterne poche e diradarle molto bene. Solo a questo modo si può osservare il punto di origine delle ife, ciò che è molto difficile, se non impossibile, quando esse sono moltissime ed agglomerate.

Dopo queste diverse prove concludevo che mi trovavo di fronte ad un vero fenomeno di semiletalità, che non interessava solo alcuni clamidoconidi ma una gran massa di essi.

A questo punto mi si presentava il problema di indagare sulle cause del fenomeno, se cioè esso fosse di origine trofica, non avendo avuto il carbone un substrato adatto per il suo sviluppo o di origine genetica.

Per tutte le succitate prove di germinazione come substrato adoperavo agar-patata-destrosio, che è quello più comunemente adoperato in molti laboratori Statunitensi per queste ricerche. In seguito provavo altri substrati e precisamente : agar-fagiuoli-saccarato ; agar-avena-destrosio ; agar-pruno ; agar-Czapek ; agar-

cocco (*). Alcuni di essi erano adoperati anche allo stato liquido e a diversi pH.

Su questi substrati furono eseguiti numerosi isolamenti monoclamidoconidici e monobasidiosporici, così pure furono fatte molte culture massali di claminoconidi (**). Sarebbe molto lungo e d'altra parte non contribuirebbe a risolvere il nostro problema, il descrivere il comportamente delle singole colture sui differenti substrati. Quelle monoclamidoconidiche e monobasidiosporiche non mostrarono tra loro una sensibile differenza nell'accrescimento, mentre quelle massali presentarono tutta una gamma di variabilità, nel colore, nel contorno delle colonie e sopratutto nella velocità di accrescimento.

L'appaiamento delle basidiospore su acqua agarizzata mostrava alcune differenze di comportamento, ma di scarso rilievo. In alcuni casi le basidiospore non si fondevano affatto ; in altri lo facevano originando delle false fusioni e solo delle esili ife aeree ; in altri ancora sembrava che si fondessero in modo caratteristico ma in un numero così esiguo da non convincere perfettamente.

Inoltre si osservava un altro fatto : le basidiospore si moltiplicavano enormemente, mentre ciò non si verifica, come è noto, nelle linee a comportamento normale che presentano uno o più gruppi sessuali.

Poichè sull'acqua agarizzata le basidiospore avevano tale comportamento, pensavo che l'agar adoperato non fosse puro ma contenesse qualche sostanza di accrescimento e così in seguito sostituivo quello granuloso, che è il più adoperato nello Istituto di Patologia vegetale dell'Università del Minnesota ed in quello dello Stato di Washington, con il Bacto-agar della Difco, che è più puro dell'altro. Ma anche con questa modifica le basidiospore continuavano a moltiplicarsi senza presentare alcuna fusione.

Per questi risultati constantemente negativi, concludevo che il fenomeno della semiletalità non dipendeva dalla natura trofica dei substrati, almeno di quelli più comuni che io avevo adoperato, nè dalla qualità dell'agar, ma da altri fattori, presumibilmente genetici, molto complessi ad essere individuati (***).

(*) Quest'ultimo risultava così costituito : gr. 100 di liquido di cocco ; cc. 150 di soluzione Pfeffer ; gr. 5 di agar.

(**) È ovvio che per gli isolamenti monobasidiospirici erano adoperati solo i substrati solidi.

(***) Sebbene non l'abbia detto specificamente, a questo punto aggiungo che molte delle dette prove di germinazione dei clamidoconidi e di appaiamento delle basidiospore, erano fatte parallelamente ad altre nelle quali si adoperava materiale a comportamento normale. Ciò allo scopo di esclu-

Dopo tali tentativi, pur conoscendo l'estrema difficoltà che le ricerche presentavano in ogni direzione, le orientavo verso il campo cariologico: cioè mi proponevo di colorare il materiale in germinazione e sopratutto quello del gruppo letale per vedere la sua morfologia nucleare. Poteva accadere per es. che in tali clamidoconidi, le divisioni nucleari fossero normali nel basidio e nelle prime 4 basidiospore e che, in seguito alla moltiplicazione di queste ultime, due avessero una divisione nucleare normale e dessero origine ciascuna ad una colonia normale, le altre due presentassero una eventuale degenerazione nucleare per cui le cellule si esaurivano dopo le prime 5-6 gemmazioni. Questo fatto, se fosse stato dimostrato, pur chiarendo il meccanismo del fenomeno non ne avrebbe pertanto spiegato esaurientemente la causa.

Come colorante adoperavo HCl-Giemsa (HRUSHOVETZ 1956, MURRAY and GILLEN 1950, MURRAY and WHITFIELD 1956, WHITFIELD and MURRAY 1954), che per alcuni carboni, a comportamento genetico normale come *Ustilago avenae*, *Ustilago levis*, *Ustilago zeae*, *Ustilago cynodontis*, mi aveva dato risultati veramente brillanti (*).

Difatti esso colorava il nucleo delle cellule del basidio e delle basidiospore in un rosso vivo che spiccava chiaramente sul citoplasma incolore (**).

La difficoltà maggiore da superare era quella di trovare il modo come trasferire dal substrato sul quale si era accresciuto, al vetrino portaoggetto, il gruppetto delle basidiospore letali, che al massimo era costituito da 20-25 elementi e di farvelo permanere durante le varie fasi della colorazione (***). Ciò purtroppo costituiva una difficoltà insuperabile per cui i risultati ottenuti

dere tutti quei presumibili fattori di tecnica e di ambiente che avrebbero potuto essere ritenuti responsabili del fallimento delle prove.

(*) Tali prove avrebbero potuto costituire probabilmente oggetto di una mia Nota di cariologia, se nonostante i numerosi vetrini approntati, sia in St. Paul che in Pullman, non avessi trovato, per la preparazione della documentazione fotografica, delle difficoltà, indipendenti dalla mia volontà, che non mi fu possibile superare.

(**) Recentemente S. Dietz, un laureando del Dipartimento di Patologia vegetale di Pullman, adoperava tale metodo per colorare gli sporidi di *Ustilago spegazzini* var. *agrestis* (1956).

(***) Come è noto il metodo HCl-Giemsa, almeno per l'applicazione che io ne ho fatto, consiste nel passare per 3 o 4 volte sulla fiamma un vetrino porta-oggetto e poi deporvi al centro o in un altro punto, una quantità di basidiospore, prelevata indifferentemente da una coltura liquida o solida. Il vetrino poi viene esposto ai fumi di una soluzione di acido osmico, capovolgendolo sull'apertura di una boccetta contenente la detta soluzione. In seguito lo si passa in una soluzione di HCl, in quella di Buffer e finalmente nello Azzur-Eosin-Metilenblau (preparato sec. Giemsa). Ora può

non furono molto incoraggianti. Nonostante ciò credo opportuno riportare le prove fatte allo scopo che possano essere utili a chi si interessa di questo genere di ricerche in particolare ed ai Cultori di tecnica in generale. Esse si svolsero in questo modo.

1) I clamidoconidi venivano messi a germinare su un blocchetto di agar-patata-destrosio e quando erano pronti, dal promicelio di ognuno di essi, con la nota tecnica, venivano isolate le quattro basidiospore nelle posizioni a-b-c-d. Quasi nello stesso tempo veniva asportato l'angoletto del substrato sul quale si trovava la massa dei clamidoconidi per modo che rimanessero soltanto le quattro basidiospore, debitamente distanziate fra di loro. Quando si erano moltiplicate ed avevano costituito delle coloniette quasi visibili ad occhio nudo (naturalmente solo quelle provenienti dalle due basidiospore ad accrescimento normale), il blocchetto veniva ribaltato su un vetrino portaoggetto, che preventivamente era stato spalmato di un leggero strato di glicero-albumina. In seguito il blocchetto veniva distaccato di nuovo, ma nonostante si operasse con molta delicatezza, non si poteva evitare un piccolo slittamento di esso sul vetrino, per cui quando si osservavano al microscopio i gruppetti delle basidiospore rimasti aderenti essi non si presentavano più distinti e separati tra di loro, ma spesso erano confusi in un unica massa. Inoltre non tutte le basidiospore si staccavano dal blocchetto, ma una minima parte per cui non tutto il materiale era colorato.

Dei due gruppetti letali poi si rinvenivano solo alcune basidiospore che durante le varie fasi della colorazione finivano per disperdersi e non si rintracciavano più.

2) Ad eliminare l'inconveniente della possibile confusione tra le quattro coloniette quando si ribaltava il blocchetto di agar-patata-destrosio sul vetrino portaoggetto, le quattro basidiospore, al momento dell'isolamento, venivano trasferite su altrettanti blocchetti dello stesso substrato che, uno dopo l'altro, erano accostati a quello che portava il clamidoconidio germinato.

Rimaneva però sempre il problema che non tutte le basidiospore si distaccavano dal blocchetto ed aderivano al vetrino portaoggetto, per cui anche questo metodo era insoddisfacente.

---

accadere che durante queste varie manipolazioni e passaggi, accompagnati sempre da ripetuti lavaggi del vetrino in acqua distillata, non tutto il materiale vi rimanga attaccato, ma una parte si stacchi e vada perduto nei diversi liquidi. Ciò si può verificare sopratutto quando, come nel caso delle basidiospore del gruppo letale, esse siano in numero molto esiguo.

3) Come adesivo allora fu provato oltre che la glicero-albumina, spalmata sul vetrino in pellicole più o meno spesse, il succo appiccicaticcio di *Zebrina pendula* (nota con il nome di *Tradescantia* o di miseria) che, come mi riferiva il collega H. Govindu da Bangalore (India), nel suo Istituto per analoghi lavori aveva dato ottimi risultati. Purtroppo anche questo espediente non risolveva il mio problema.

4) Data quindi la difficoltà di fare aderire tutte le basidiospore dal blocchetto di agar-patata-destrosio al vetrino portaoggetto, agivo diversamente, cercando di eliminare tale passaggio.

Dopo aver preparato allora quattro vetrini portaoggetto ed averli spalmati con un leggero strato di glicero-albumina, ponevo su ciascuno una goccia di brodo patata-destrosio trasferendovi successivamente una basidiospora. Tale metodo, se in un primo momento mi sembrava molto adatto allo scopo, in seguito non dava risultati soddisfacenti. Difatti quando il vetrino veniva posto sotto il micromanipolatore, se la goccia era piccola si prosciugava molto rapidamente prima che vi fosse trasferita la basidiospora, se era grossa con il movimento del vetrino durante le varie fasi delle operazioni, si spostava e qualche volta si disperdeva per tutta la superficie di esso cosicchè la basidiospora che vi veniva trasferita in ultimo si rintracciava con estrema difficoltà. Per tale inconveniente anche questo metodo era abbandonato.

5) Verso gli ultimi giorni della mia permanenza in Pullman facevo un successivo tentativo per risolvere il problema e sono sicuro che gli sforzi sarebbero stati coronati da successo se avessi avuto a mia disposizione più tempo. Ma si avvicinava il momento della fine della mia missione per cui mi dovevo preparare per il ritorno in Italia e dovetti quindi sospendere le prove.

Esse consistevano nell'operare come al n. 2, con la differenza che sulla superficie dei quattro blocchetti di agar-patata-destrosio distendevo un pezzetto di cellophane, di quel tipo che viene adoperato in Pullman e in St. Paul (Grasso 1956).

In pratica allora invece di trasferire direttamente le basidiospore sulla superficie del blocchetto di substrato, le ponevo sulla pellicola di cellophane. Quando le colonie si erano sviluppate, con una pinzetta staccavo il cellophane e lo immergevo nei diversi liquidi per la colorazione. Molto spesso sia le colonie a sviluppo normale che quelle mostranti il fenomeno della letalità, rimanevano per tutti i passaggi totalmente aderenti al cellophane. Questo metodo, perfezionato in alcuni particolari, avrebbe potuto risol-

vere il problema da me posto, ma, come dicevo, i preparativi per il ritorno in Italia mi fecero interrompere ogni ulteriore tentativo.

Contemporaneamente alle suddette prove colturali e cariologiche sopratutto durante la mia permanenza in Pullman, ne facevo altre che consistevano nel combinare alcune linee in accrescimento della collezione Parma, moltiplicata in Pullman, con altre provenienti da un carbone, sempre dell'avena, a comportamento normale. Ciò allo scopo di vedere se l'F1, (Fig. 1) prove-

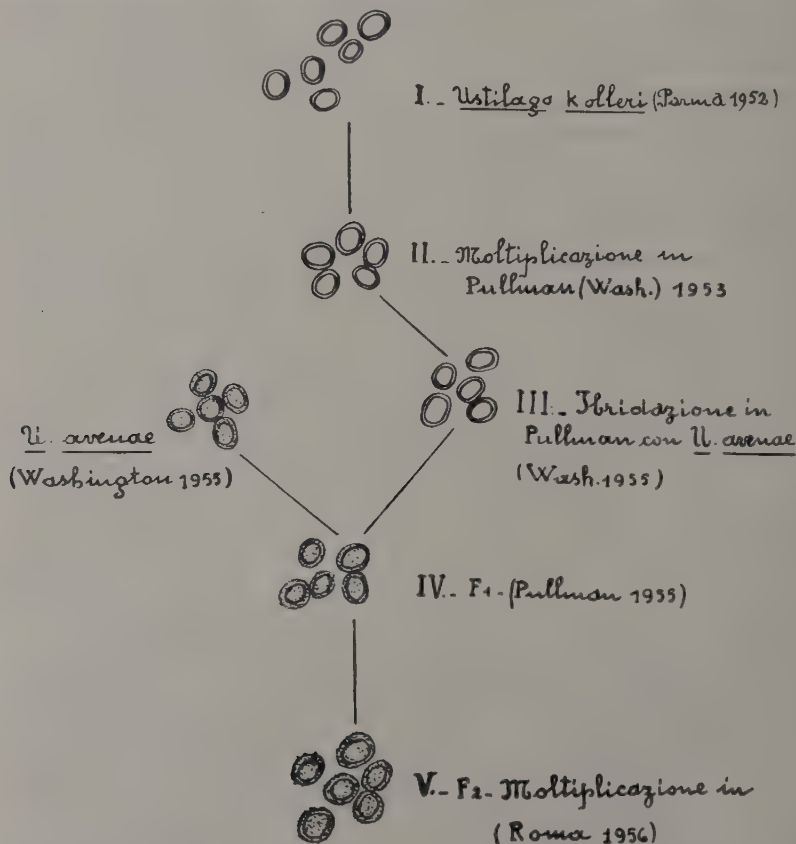


Fig. 1. — Moltiplicazione ed ibridazione delle collezioni: *Ustilago kolleri* (Parma) ed *U. avenae* (Washington State). I) Clamidoconidi di *U. kolleri* della collezione originaria raccolti a Parma (1952) e presentanti il fenomeno della semiletalità. II) Clamidoconidi ottenuti in Pullman per moltiplicazione di quelli della collezione I. III) Ibridazione del materiale *U. kolleri* (Parma) x *U. avenae* (Washington State) 1955. IV) FI ottenuto dalla suddetta ibridazione (Pullman 1955) e presentante il fenomeno della letalita completa. V) F2 ottenuto dalla moltiplicazione del materiale di F1 (Roma 1956) e presentante lo stesso il fenomeno della letalità completa.

niente da questa combinazione, avesse ancora mostrato il fenomeno della semiletalità.

Così dopo aver scelto alcune linee della collezione Parma e precisamente a-b del clamidoconido 180, facevo diversi isolamenti monobasidiosporici da una collezione di *Ustilago avenae*, proveniente dallo Stato di Washington, che mi era stata consigliata dal dott. Holton. Successivamente, accertatomi che essa presentava due gruppi sessuali, secondo la normalità dei carboni dei cereali, combinavo in prove di laboratorio queste linee con quelle a-b del clamidoconidio 180 della collezione Parma, per vedere quali tra di loro fossero compatibili. Dopo numerosi tentativi constatavo che con le due linee di Parma erano compatibili le linee a-c, a-d, a-d, rispettivamente dei clamidoconidi 140-160-180.

Con tale materiale nella primavera 1955 preparavo le prove definitive in campo che ebbero la seguente impostazione e diedero le percentuali di infezione come alla tabella 1 (*).

Nello stesso anno 1955 nel continuare queste ricerche, in Italia, non era mia intenzione occuparmi dettagliatamente dei risultati ottenuti dalla suddetta ibridazione in Pullman : *Ustilago kolleri* × *U. avenae*, riguardo alla morfologia delle spighe carbonate, alla forma e grandezza dei clamidoconidi, alla presenza delle echinulazioni sulle loro pareti etc., poichè tali argomenti sono stati illustrati da molti AA. che si sono occupati specificatamente di ciò (Allison 1937, Hanna and Popp 1930, Holton 1931, 1932, 1936, 1941, 1951).

Mi proponevo invece di esaminare il comportamento di questo ibrido rispetto al fenomeno della semiletalità.

L'F1 dei 12 campioni saggio, provenienti dalle relative parcelle, (Tab. I) presentava clamidoconidi con pareti color marrone e finemente echinulate.

Per gli esami che mi accingevo a fare furono prese in considerazione alcune spighe delle parcelle 8-9, a loro volta scelte tra le centinaia di spighe carbonate ottenute dall'intero campo sperimentale. Da ciascuna di esse furono prelevati due o tre sori da cui poi per gli isolamenti monobasidiosporici furono separati numerosi clamidoconidi.

(*) Ancora una volta mi è grato ringraziare vivamente il dott. Holton per avermi data ampia possibilità di fare queste prove nel campo sperimentale del suo Laboratorio; per avermele fatte curare ed aver inviato in Italia (1955) i risultati ottenuti ed una parte delle spighe carbonate, che utilizzavo nel proseguimento delle ricerche.

TABELLA 1.

PROVE DI IBRIDAZIONE : *Ustilago kolleri* (Parma) x *U. avenae* (Wash.) ESEGUITE IN PULLMAN (Wash.) NELLA PRIMAVERA ESTATE 1955.

Parcella	Cv. di Avena Anthony	Linee ibridate			% di infezione
		U. kolleri (Parma)	×	*U. avenae* (Wash.)	
1	»	180 a		140 a	70
2	»	b		a	98
3	»	a		c	98
4	»	a		c	97
5	»	180 a		160 a	100
6	»	b		a	100
7	»	a		d	98
8	»	b		d	98
9	»	180 a		180 a	98
10	»	b		a	97
11	»	a		d	96
12	»	b		d	98

Fin dalle prime osservazioni rilevavo che i clamidoconidi nella massima parte non germinavano nel modo classico, cioè con il basidio e le quattro basidiospore nella posizione a-b-c-d-, ma emettevano un promicelio alquanto allungato, ricurvo, spesso con fusioni intersettoriali e basidiospore sviluppate in diversi punti dell'organo. Sembrava che la germinazione non fosse avvenuta su agar-patata-destrosio, terreno comunemente adoperato per queste ricerche, ma su acqua agarizzata dove, come è noto, i clamidoconidi di *Ustilago kolleri* ed *Ustilago avenae* (e quelli di tanti altri *Ustilago*), germinano con il solo promicelio producendo pochissime basidiospore. Inoltre queste, isolate e trasferite agli angoli del blocchetto di substrato, si accrescevano molto lentamente e dopo 48 ore avevano formato delle colonie piccole, invisibili ad un binoculare con i più forti ingrandimenti. Dapprima ritenevo che questo fatto fosse puramente casuale, che cioè riguardasse solamente i clamidoconidi isolati, ma in seguito isolando altro materiale constatavo che il fenomeno si ripeteva e deducevo che esso era pressocchè generale.

Nonostante ciò dopo ripetuti tentativi riuscivo ad isolare una cinquantina di clamidoconidi che germinavano quasi nel modo classico formando le quattro basidiospore. Pensavo che esse dovessero avere un normale accrescimento. Isolavo allora da ciascun clamidoconidio le 4 basidiospore allontanandole sul blocchetto con la solita tecnica; ma contrariamente alle previsioni anche esse presentavano un accrescimento molto stentato e, come le altre isolate precedentemente, dopo 48 ore avevano formato delle colonie molto piccole che infine si esaurivano.

Per diverso tempo furono fatti numerosi altri tentativi ma sempre con i medesimi risultati, cioè nella impossibilità di fare accrescere le colonie monobasidiosporiche.

Nella primavera 1956, sia per timore che i clamidoconidi raccolti nel 1955 potessero perdere la germinabilità e quindi non avessi più materiale per le mie prove successive e sia per vedere il comportamento dell'F2, con i clamidoconidi dell'F1 e precisamente con quelli degli ibridi 8-9-10-11, infettai delle cariossidi di avena, cv. Anthony, seminandole nel campo di questa Stazione di Patologia vegetale. Tale infezione era eseguita per mezzo di una apparecchiatura producente il vuoto (Fig. 2).



Fig. 2. — Apparecchiatura per la infezione delle cariossidi di avena. 1) Pompa per il vuoto; 2) Motorino elettrico; 3) Matracci con cloruro di calcio per l'assorbimento della umidità; 4) Dissecatore con i tubi, raccolti in un cestello e contenenti le cariossidi di avena immerse in una sospensione di clamidoconidi di *Ustilago avenae* (Foto del Dr. M. Rosa).

Anche in questo caso non mi soffermo a descrivere le caratteristiche morfologiche dell'F2 poichè come dicevo dianzi non è questo il precipuo scopo delle mie indagini: solo preciso che i

clamidoconidi ottenuti e provenienti da numerosi sori si presentavano di un marrone scuro con le pareti finemente echinulate.

In seguito prima di iniziare le ricerche con tale materiale e con quello dell'F1, ancora germinabile, misi a punto la tecnica, lavorando con una collezione di *U. avenae*, raccolta nel 1956 a Tarquinia (Viterbo) e con un'altra di *U. levis* raccolta a Roma nel 1956, presumibilmente a comportamento normale.

Con i clamidoconidi di tali collezioni furono fatte numerose prove di germinazione e fu visto che essa era normale poichè si produceva un regolare basidio con le quattro basidiospore, che, a loro volta isolate e fatte sviluppare ciascuna agli angoli del blocchetto di substrato, dopo 48 ore avevano formato delle coloniette ben visibili ad occhio nudo e meglio al binoculare.

Quindi la tecnica, comprendente le varie operazioni dell'isolamento : il materiale (ago, substrato agar-patata-destrosio) ; nonchè i fattori ambientali, erano perfettamente adatti per svolgere queste ricerche.

Cominciai lo studio esaminando il materiale F1 (ibridi 8-10 raccolti in Pullman nel 1955) continuandolo con l'F2 (ibridi 9-10, moltiplicati in Roma nel 1956).

Di ciascun ibrido furono fatti germinare numerosi clamidoconidi, isolatamente o in massa e furono necessari molti tentativi per fare sviluppare ed accrescere le loro basidiospore. I risultati conseguiti, purtroppo non sempre incoraggianti, furono quasi gli stessi, sia per il materiale dell'F1, come per quello dell'F2, per cui nella descrizione si trattano contemporaneamente.

a) Isolamenti monobasidiosporici. Ad essi fu data la massima importanza poichè lo scopo principale del lavoro era di vedere il comportamento genetico delle basidiospore in combinazini intra e interspecifiche con altre linee. Come nelle prove preliminari del 1955, anche adesso constatavo che i clamidoconidi germinavano del tutto anormalmente, con formazione di un promicelio che al posto del basidio con le quattro basidiospore, presentava altrettanti articoli come fossero delle modeste ramificazioni (Fig.3-a).

In questo caso era impossibile isolare le basidiospore, poichè esse non si erano distintamente formate.

Da molti altri clamidoconidi invece si produceva un vero basidio sul quale erano impiantate due o tre basidiospore apparentemente normali. Quando però queste basidiospore venivano isolate e osservate dopo 24-48 ore, si constatava che nella maggior parte dei casi esse non si erano moltiplicate, ma erano rimaste della

stessa grandezza che avevano quando erano state isolate dal basidio. Alcune avevano germinato producendo un esile e contorto micelio, altre ancora erano quasi scomparse per un processo di lisi verificatosi nel loro protoplasma. Nè valeva la pena di lasciarle in osservazione più a lungo, poichè esse si presentavano quasi sempre nel modo sopra descritto.

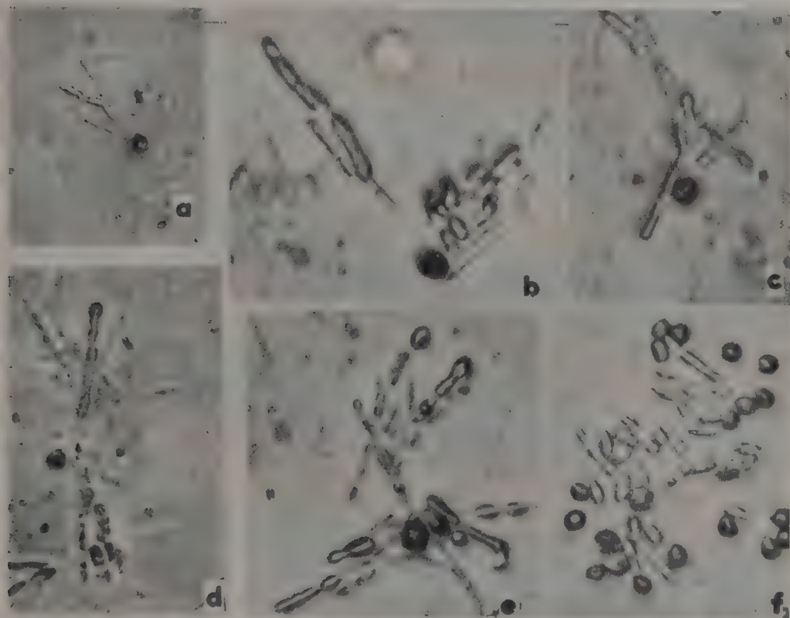


Fig. 3. — Clamidoconidi da *Ustilago kolleri* (Provenienza Parma) x *Ustilago avenae* (Provenienza: una località dello State di Washington) su agar-patate-destrosio. (*a*) Germinazione di un clamidoconidio per micelio ramificato (dopo 24 ore dall'isolamento). (*b*, *c*, *d*) Colonie irregolari, allungate, provenienti ciascuna dalla germinazione di un clamidoconido (dopo 48 ore dall'isolamento). (*e*) Colonia irregolare, quasi raggiata, proveniente come *a*, *b*, *c*, *d*. (*f*) Colonie pluriclamidoconidiche (dopo 4 gg. di sviluppo).

Pensavo allora che questo mancato sviluppo potesse essere probabilmente attribuito al fatto che le basidiospore erano state prelevate da clamidoconidi i cui basidi ne presentavano un numero incompleto: 2-3 e quindi forse non erano fisiologicamente mature. Per questo dubbio nelle successive prove furono isolati circa 50 clamidoconidi che apparentemente presentavano una germinazione normale poichè i loro basidi portavano ciascuno 4 basidiospore. Tra essi ne furono scelti 40, e cioè quelli le cui basidiospore si staccavano molto facilmente e furono scartati invece

i clamidoconidi dai quali le basidiospore si staccavano con difficoltà, anche dopo aver ripetutamente provato con l'ago. Ciò per evitare qualsiasi dubbio sulla immaturità del materiale o gli eventuali danni provocati dall'ago. Nonostante tutti questi accorgimenti le basidiospore isolate si accrescevano molto lentamente ed anormalmente. Dopo 48 ore esse avevano prodotto altri 13 o 14 nuovi elementi o avevano dato luogo ad un micelio esile e contorto: in qualche caso erano intervenute lisi per cui il citoplasma si era completamente disintegrato.

Pensando che tali colonie non presentassero nessun particolare fenomeno se non un lentissimo accrescimento, dopo le 48 ore le trapiantavo in tubi con agar-patate-destrosio, tenendole in osservazione per alcune settimane. Purtroppo dopo tale periodo esse non mostravano nessuno sviluppo per cui ormai bisognava ritenerle morte.

b) Poichè il tentativo di fare sviluppare le 4 basidiospore originate direttamente dal basidio era fallito, pensavo allora di indagare sul comportamento delle altre che si sviluppavano da esse. Quindi invece di iniziare gli isolamenti dopo 24-30 ore dalla germinazione dei clamidoconidi, quando da essi si erano sviluppate solo poche basidiospore, attendevo che queste aumentassero di numero, fino a 8-10-15 e poi le separavo disperdendole ad una ad una sulla superficie del substrato. Benchè in questo modo, come dicevo, si separassero diversi elementi, tuttavia l'operazione si svolgeva abbastanza rapidamente, poichè non era necessario allontanare di molto fra loro tali elementi ma bastava che essi avessero uno spazio sufficiente per lo sviluppo di eventuali colonie: in effetti occorreva meno tempo per separare le 4 basidiospore a-b-c-d secondo il metodo classico. Così si separavano elementi di di ogni forma, grandezza e posizione rispetto al basidio: da quelli più vicino ad esso a quelli più distanti. Pertanto indistintamente nessun elemento si accresceva, nè si moltiplicava.

Il fenomeno letale quindi riguardava indistintamente tutte le basidiospore sviluppate dalla germinazione del clamidoconidio.

c) Successivamente volli indagare anche sul comportamento delle colture monoclamidoconidiche. A questo scopo isolavo molti clamidoconidi che al solito facevo sviluppare su agar-patate-destrosio: come ho detto precedentemente, essi germinavano con un promicelio ramificato (Fig. 3a). Quando si producevano le basidiospore, esse formavano delle colonie molto irregolari, allungate (Fig. 3b, c, d) o quasi raggiate (Fig. 3e): ma mai rotondeggianti come quelle provenienti da clamidoconidi con germinazione normale.

Allo scopo poi di seguire l'accrescimento di tali clamidoconidi, dopo 4-5 giorni dal loro sviluppo iniziale, li trasferivo in tubi con agar-patate-destrosio, ma pur avendo atteso per diverso settimane, essi non subivano alcun accrescimento per cui concludevo che erano morti.

d) Simile comportamento avevano anche gruppi di clamidoconidi. Difatti come si vede dalle fig. 3f, fig. 4a, b, la massa delle basidiospore, sviluppata da alcuni di essi è molto modesta in confronto a quella prodotta da clamidoconidi con germinazione normale (Fig. 4c).

In alcuni casi poi i clamidoconidi emettevano dei lunghi filamenti micelici nei quali il citoplasma si raccoglieva all'estremità mentre le porzioni basali apparivano quasi vuote (Fig. 4d). Spesso tali filamenti, provenienti da più di un clamidoconidio, si intrecciavano tra di loro costituendo nell'insieme un reticolo molto complesso e sottile. Anch'essi dopo qualche settimana dal loro sviluppo iniziale degeneravano, per cui era impossibile coltivarli su substrati artificiali. Qualche volta (Fig. 5) si avevano colonie nelle quali si producevano : micelio strisciante (a), aereo (b) e numerose basidiospore disposte come in un grappolo (c).

I fatti più salienti che emergono da queste prove sono due : *a*) Anormalità della germinazione dei clamidoconidi ; *b*) Lisi dei basidi e delle basidiospore.

a) Il primo fenomeno è stato notato in molti carboni da diversi Autori : Goldschemidt in incroci di linee di *Ustilago violacea* (1928) ; Kienhotz e Heald in *Tilletia tritici* (1930); Christensen in ceppi incrociati di *Ustilago zeae* (1931) ; Rodenhiser in combinazioni *Sphacelotheca sorghi* × *Sphacelotheca cruenta* (1932) ; Chilton in *Ustilago zeae* (1943) e qualche altro. Per quanto io abbia potuto appurare nessuno di essi ha riportato casi di anormalità di germinazione in clamidoconidi provenienti da *Ustilago kolleri* × *Ustilago avenae*.

Hanna e Popp (1930) e sopratutto Holton, i cui lavori sull'*Ustilago avenae* e *U. levis* (1931-1932), benchè fatti oltre 20 anni fa, rimangono sempre dei veri modelli in questo tipo di ricerche, non menzionano tale fatto, anzi l'ultimo Autore precisa che i clamidoconidi « ottenuti dalle combinazioni *Ustilago avenae* × *Ustilago levis* (sin. *U. kolleri*) germinavano in modo perfettamente normale, mentre gli sporidi isolati dai loro basidi non volevano crescere in coltura, eccetto che in rari casi ».

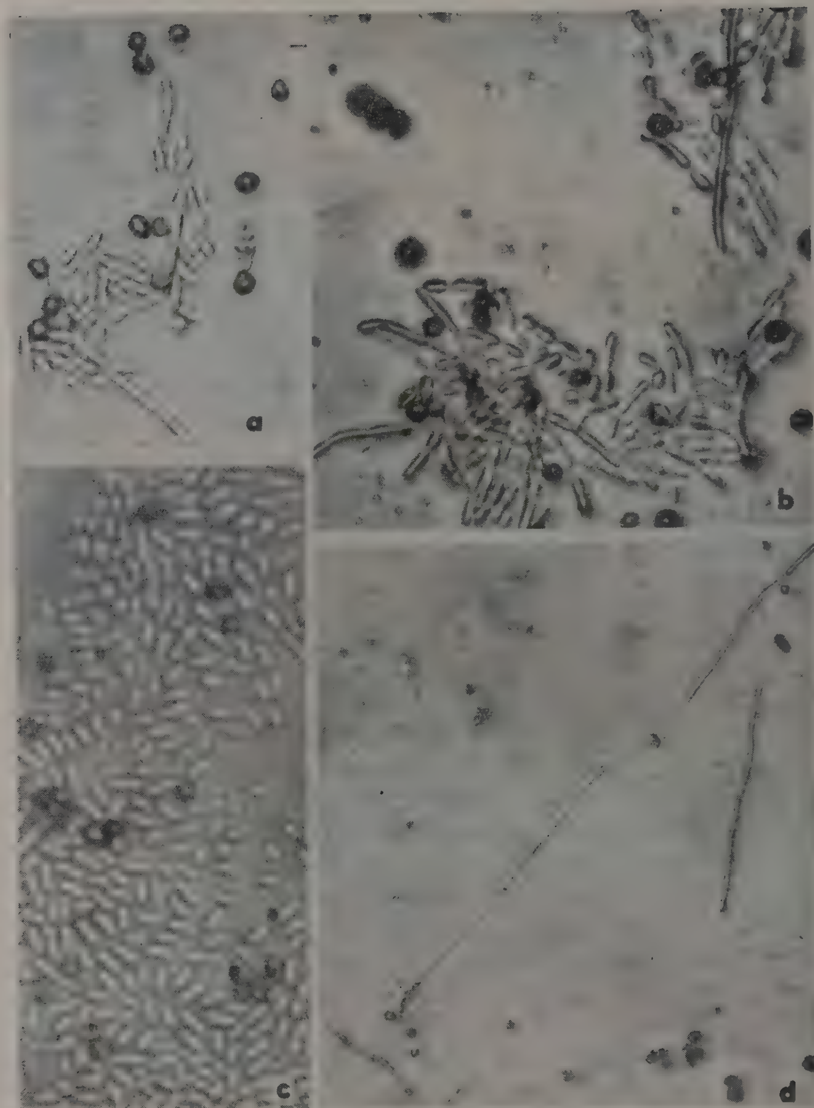


Fig. 4. — Clamidoconidi da *Ustilago kolleri* (Provenienza: Parma) x *Ustilago avenae* (Provenienza: una località dello State di Washington) su agar-patate-destrosio. (*a*, *b*) Colonie pluriclamidoconidiche rispettivamente dopo 4 e 5 giorni di sviluppo. (*c*) Colonie pluriclamidoconidiche provenienti da una collezione di *Ustilago avenae* a comportamento normale, dopo 4 gg. di sviluppo. (*d*) Tipo di ife, quasi sicuramente dicariofite, provenienti direttamente dalla germinazione di clamidoconidi. Si noti il citoplasma raccolto alle estremità delle ife, mentre le parti basali e le mediane appaiono vuote (dopo 4 gg. di sviluppo).

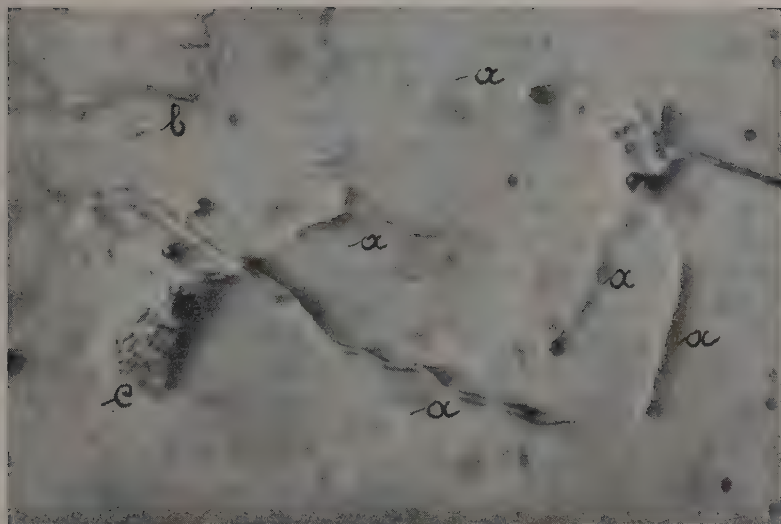


Fig. 5. — Clamidoconidi da *Ustilago kolleri* (Provenienza : Parma) x *Ustilago avenae* (Provenienza : una località dello State di Washington) su patate-destrosio-agar. Colonie pluriclamidoconidiche con sviluppo di micelio strisciante (*a*), aereo (*b*) e produzione di basidiospore (*c*) dopo 4 gg. di sviluppo.

Quindi questo mio reperto sembra nuovo e d'altronde conferma quanto già diversi Autori hanno affermato per gli altri ibridi di *Ustilago*.

b) Lisi del promicelio e delle basidiospore (quando si formano). In generale un clamidoconidio normale che germina e che è coltivato su substrati artificiali, forma una colonia che si accresce continuamente.

Invece nel materiale degli ibridi F1 e F2, come ho detto dopo che per qualche tempo il promicelio e le basidiospore si sono lentamente accresciuti, ad un certo punto il loro sviluppo si arresta completamente ed il citoplasma degenera.

Questo fatto pur molto peculiare in se, costituisce un serio inconveniente per gli studi di genetica di tali ibridi, poichè per mancanza di materiale non si possono approfondire tali ricerche e quindi il fenomeno non è mai sufficientemente indagato.

Essendo tale lisi strettamente collegata con la anormalità di germinazione dei clamidoconidi, essa è stata riscontrata in quasi tutti quei casi nei quali si è presentato l'altro fenomeno : così in *Ustilago violacea* (GOLDSCHMIDT 1928), *Tilletia tritici*

(KIENHOLZ and HEALD 1930), *Sphacelotheca sorghi* (LASKARIS 1939), in combinazioni *Sphacelotheca sorghi* × *Sphaceloteca cruenta* (RODENHISER 1932) ed in qualche altro carbone.

Altre considerazioni da me fatte sono state l'anormalità di germinazione e le lisi che si riproducevano per due generazioni consegutive : F1 e F2 (*).

Spiegare le ragioni per cui i miei ibridi si sono comportati in questo modo non è facile. Solo si può affermare che siccome le collezioni Parma e Washington, isolatamente, si sono comportate in modo normale e ibridandole hanno dimostrato dei fatti anormali, questi sicuramente sono dovuti all'insorgere dei fattori di origine genetica : nel nostro caso fattori determinanti la letalità totale.

Quantunque tale argomento sia stato trattato da diversi Autori, ritengo che nessuno si sia occupato estesamente di esso dando a riguardo delle esaurienti spiegazioni.

Nell'affrontare questo lavoro era mio scopo esaminare particolarmente i risultati della combinazione *Ustilago kolleri*, mostrante il fenomeno della semiletalità ed un altro *Ustilago* sempre dell'avena, a comportamento normale. A tale proposito sarebbe stato più opportuno che io avessi combinato l'*Ustilago kolleri* di Parma con un altro *Ustilago kolleri* di una provenienza qualsiasi, anzichè con l'*Ustilago avenae*, come mi era consigliato di fare.

I fatti ora osservati non so se si debbano attribuire alle conseguenze naturali della ibridazione o alla influenza dell'*Ustilago kolleri*, presentante il fenomeno della semiletalità. Nel combinare *U. kolleri* × *U. kolleri* molti di essi relativi alla ibridazione sarebbero stati eliminati mentre non era improbabile che ne sarebbero sorti dei nuovi, non ancora riscontrati in questo campo di ricerche.

Alla fine del lavoro desidero chiarire un punto della precedente Nota (GRASSO 1954), nella quale discutevo sulle possibilità o meno da parte dell'*U. kolleri* di Parma di provocare infezioni sulle piantine di avena.

Allora dicevo che siccome in nessuna combinazione intra e interspecifica delle linee della detta collezione avevo mai avuto dei risultati positivi, cioè delle fusioni, pensavo che il carbone non

---

(*) Chilton in alcune linee incrociate di *Ustilago zeae* ha trasmesso tale fenomeno per tre generazioni consecutive di clamidoconidi (Chilton 1943).

avesse più la possibilità di provocare le infezioni, cioè che esso fosse degenerato. Inoltre aggiungevo che se invece di mettere a germinare pochi clamidoconidi ne fossero stati messi moltissimi si sarebbero potute osservare molte ife aeree che potevano ritenersi infettive cioè dicariofite. Dopo l'esperienza acquisita in questi anni su tali argomenti, ritengo che quelle ife non erano infettive ma solo vegetative.

Inoltre le ife infettive si possono originare sia da un solo clamidoconidio, come da un gruppo di essi, indipendentemente dal loro numero.

Come ho detto innanzi la distinzione tra ife infettive e vegetative si può sicuramente fare solo quando si vedano i loro punti di origine: rispettivamente da una fusione di due basidiospore o da una di esse. Purtroppo tale accertamento non si può fare in un gruppo più o meno numeroso di clamidoconidi, poichè è difficile vedere da dove provengono le ife.

Ora ci si domanda come mai un carbone che non si è potuto fare sviluppare su nessun substrato artificiale, sul quale si è comportato quasi come un parassita obbligato, possa poi in natura essere infettivo. È bene precisare a questo riguardo che tutti fenomeni suesposti: semiletalità, letalità, anormalità di germinazione, lisi ecc. si presentano quando i clamidoconidi sono coltivati su substrati artificiali cioè in condizioni saprofitarie. Non è stato accertato se essi si verifichino anche in natura: dove tale carbone avrà probabilmente un comportamento diverso, sopratutto in rapporto al modo di infezione della pianta.

Diversi Autori, tra i quali Western (1937), hanno dimostrato che le infezioni sull'avena da *Ustilago levis* (sin. *Ustilago kolleri*) e *Ustilago avenae*, a comportamento normale, sono prodotte da un promicelio che originatosi dal clamidoconidio, dopo che alcuni suoi elementi si sono fusi, penetra nel tegumento delle cariossidi. Raramente si producono le classiche ife dicariofite, provenienti dalla fusione di 2 basidiospore poichè queste in natura spesso non si formano tutt'al più si originano elementi che sono molto simili alle basidiospore ma non come quelle che si producono in coltura. Quindi in conclusione le infezioni in natura sono prodotte da un promicelio originatosi dalla diretta fusione degli elementi del basidio.

Per quanto mi consta nessun Autore finora ha accertato se tale processo sia comune anche agli ibridi dei carboni dell'avena e nel nostro caso specifico a quello dell'*Ustilago kolleri* × *Ustilago avenae*.

Come si può rilevare dalla esposizione delle suddette ricerche, esse hanno presentato aspetti molto interessanti ma spesso abbastanza complessi.

Io credo di averne ampiamente illustrato alcuni confermando quanto altri Autori stranieri hanno segnalato a riguardo e spesso descritto succintamente.

Altri aspetti poi sono stati messi in evidenza da me per la prima volta.

Purtroppo ne rimangono ancora altri riguardanti : i substrati colturali adatti ad eliminare il fenomeno della letalità parziale e completa ; il comportamento dell'F1, proveniente dalla combinazione *Ustilago kolleri* (da Parma) × *Ustilago kolleri* (a comportamento normale) (*) ; le modalità d'infezione delle piantine di avena da parte di clamidoconidi degli ibridi F1 ; la morfo logia nucleare del basidio e delle basidiospore. Questo ultimo reperto per me è certamente uno dei più importanti, poichè esso potrebbe essere la chiave per spiegare la maggior parte delle anormalità.

Nelle ricerche in corso saranno affrontati molti di tali argomenti e principalmente quelli che presentano una probabile e non molto complicata soluzione.

RIASSUNTO. Vengono riprese le ricerche sulla semiletalità di basiodiospore isolate da clamidoconidi di una collezione di *Ustilago kolleri* (Parma).

Si sperimentano diversi substrati per fare accrescere i gruppi letali delle dette basiodiospore : ma invano. Così come si intraprendono numerose e laboriose prove di colorazione per osservare le condizioni nucleari del materiale in germinazione : ma anche in questo caso si incontrano difficoltà tecniche insuperabili.

La detta collezione *Ustilago kolleri* (da Parma) in prove di campo, viene combinata con un'altra di *Ustilago avenae* (dal Washington State).

I clamidoconidi FI ottenuti dalla combinazione, sul substrato agar-patata-destrosio, contrariamente alle collezioni a comportamento normale, presentano una germinazione per promicelio allungato ed irregolare e con la produzione di un numero scarso di basidiospore. Queste come i clamidoconidi, per i primi 2-3 gg. si accrescono lentamente, poi si arrestano del tutto : cioè presentano una letalità totale.

I clamidoconidi F 2 presentano lo stesso comportamento.

Si passa in rassegna la letteratura riguardante gli altri carboni che presentano questo fenomeno della letalità parziale e totale.

(*) A questo riguardo posso dire che già da tempo ho isolato molte linee monosporidiali di *U. kolleri*, provenienti da una collezione raccolta nel 1956 nelle vicinanze di Roma, linee che, appena possibile, combinerò con quelle compatibili della collezione *U. kolleri* da Parma.

Si spera con le ricerche che continuano di chiarire alcuni aspetti del problema: quali substrati possano fare sviluppare le basidiospore letali; le modalità di infezione delle piantine di avena con i clamidoconidi degli ibridi F 1 e F 2; gli aspetti del nucleo durante la germinazione del materiale e qualche altro lato interessante.

SUMMARY. The researches on haplo-lethal deficiency of sporidia from chlamydospore of *Ustilago kolleri*, collected in Parma (1952), are continued. Some media are experimented to force the growth of the lethal group's sporidia, but without results. As also as to carry out many and difficult staining examinations for to observe the nuclear conditions of the material in germination. Also in this case we find some unovercoming technical difficulties.

The above mentioned *Ustilago kolleri* in the field experiments with a collection of *U. avenae* is crossed.

The chlamydospores F 1, obtained from this crossing, on potato-destrose-agar, in antithesis to behaviour of the normal collection, germinated with a long and irregular promycelium which produces a rare number of sporidia. These one as the chlamydospores, for the first 2-3 days grow slowly, then later they stop at all. It means that they schow a total deficiency.

The chlamydospores F 2, obtained in following experiments from F 1, have the same behaviour.

The literature regarding the smuts in which appears the same phenomenon of the parthial and total deficiency is surviewed.

We hope with the progressing researches we can explain some particulars of the problem: which media can let grow the lethal sporidia; in which way the chlamydospores of F 1 and F 2 can infect the oat seedlings; the nuclear conditions during the germination of the material and some more particulars.

BIBLIOGRAFIA

ALLISON C. C., Studies on the genetics of smuts of barley and oats in relation to pathogenicity. « Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.», 119, 1-34, 1937.

CHILTON ST. JOHN P., The occurrence of lysis in certain crosses of *Ustilago zeae*. (Abstract) « Phytopath. », XXVIII, 5, 1938.

ID., A heritable abnormality in the germination of chlamydospores of *Ustilago zeae*. « Phytopath. », XXXIII, 749-765, 1943.

CHRISTENSEN J. J., Studies on genetics of *Ustilago zeae*. « Phytopath. Zeitschr. », IV, 129-188, 1931.

DIETZ S. M., Morphology and cytology of spores germination and subsequent of *Ustilago spegazzini* var. *agrestis* in culture. « Res. Stud. State Coll. Wash. », 24, 393-404, 1956.

FISCHER G. W., Two cases haplo-lethal deficiency in *Ustilago bullata* operative against saprophytism. « Mycologia », XXXII, 275-289, 1940.

Id., Induced hybridization in graminicolous smut fungi. I. *Ustilago hordei* x *U. bullata*. « Phytopath. » XLI, 839-853, 1951.

Fischer G. W. and Holton C. S., Biology and control of the smut fungi. pagg. 622, Ronald Press Co. New York, 1957.

Goldschmidt V., Vererbungsversuche mit den biologischen Arten des Antherenbrandes (*Ustilago violaceae* Pers.). Ein Beitrag zur Frage der parasitären Spezialisierung. « Zeitschr. Bot. », XXI, 1-90, 1928.

Grasso V., Fenomeni di semiletalità in sporidi di *Ustilago kolleri* Wells. « Rend. Accad. Naz. Lincei, » VIII, XVI, 538-541, 1954.

Id., A haplo-lethal deficiency in *Ustilago kolleri*. « Phytopath. », XLV, 521-522, 1955.

Id., La ricerca scientifica in alcuni Istituti di Patologia vegetale degli Stati Uniti di America ». Annali della Sperimentazione Agraria », Supplem., N. S. XI, 6, XXVIII-LX, 1957.

Halisky P. M., Inheritance of pathogenicity in *Ustilago avenae*. « Res. Stud. State Coll. Washington », Vol. XXIV, 4, 348-386, 1956.

Hanna W. F. and Popp W., Relationship of the oat smuts. « Nature », 126, 843-844, 1930.

Harper R. A., Nuclear phenomena in certain stages in the development of the smuts. « Trans. Wisconsin Acad. Scie., Arts and Letters, », (1899) 12, 475-498, 1900 (Western o.c. 1937).

Hrushovetz S. B., Cytological studies of *Helmintosporium sativum*. « Can. Journ. of Botany. », XXXIV, 321-327, 1956.

Holton C. S., Hybridization and segregation in the oat smuts. « Phytopath. », XXI, 835-842, 1931.

Id., Studies in the genetics and the cytology of *Ustilago avenae* and *Ustilago levis*. « Min. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. », 87, 1-34, 1932.

Id., Inheritance of chlamydospore characteristics in oat smuts fungi. « Journ. Agr. Res. », LII, 535-540, 1936.

Holton C. S. and Fischer G. W., Hybridization between *Ustilago avenae* and *U. perennans*. « Journ. Agr. Res. », LXII, 121-128, 1941.

Holton C. S., Further studies on the oat smuts, with special reference to hybridization, cytology and sexuality. « Journ. Agr. Res. », LXII, 229-240, 1941.

Id., Method and results of studies on heterothallism and hybridization in *Tilletia caries* and *T. foetida*. « Phytopath. », XLI, 511-521, 1951.

Id., Physiologic specialization and genetics of the smut fungi. II, « Bot. Rev. », XIX, 187-208, 1953.

Holton C. S. and Dietz S. M., Haploid lethal factors associated with two unique sorus types in the oat smuts. (Abst.) « Phytopath. », XLVII, 524-525, 1957.

Kernkamp M. F., Genetic and environmental factors affecting growth types of *Ustilago zeae*. « Phytopath. », XXIX, 473-484, 1939.

Kernkamp M. F. and Petty M. A., Variation in the germination of *Ustilago zeae*. « Phytopath. », XXXI, 335-340, 1941.

Kienholz J. R. and Heald F. D., Cultures and strains of the stinking smut of wheat. « Phytopath. », XX, 495-512, 1930.

Laskaris T., The occurrence of lysis in certain crosses of *Sphacelotheca sorgi* (Abst.) « Phytopath. », XXIX, 254-263, 1941.

Id., A heritable lysis in germination chlamydospores of *Sphacelotheca sorghi*. « Phytopath », XXXI, 254-263, 1941.

Lutman B. F., Some contributions to the life history and cytology of the smuts. « Wisconsin Acad. Scie., Arts and Letters, Trans. », XVI, 1191-1244, 1910.

Murray R. G. E., Gillen D. H. and Heagy F. C., Cytological changes in *Escherichia coli* produced by infection with phage T 2, « Journ. Bact. », LIX, 603-615, 1950.

Murray R. G. E. and Whitfield J. E., Cytological effects of infection with T 5 and some related phages. « Journ. Bact. » LXV, 715-726, 1953.

Rodenhiser H. A., Heterotallism and hybridization in *Sphacelotheca sorghi* and *S. cruenta*. « Journ. Res. », (U.S.A.) XLV, 257-296, 1932.

Stakman E. C., Spore germination of cereals smuts. « Minnesota Agr. Expt. Sta. Bull. 133, 1913.

Western J. H., The biology of smuts. IV. The invasion of some susceptible and resistant oat varieties, including Markton, by selected biological species of smut. (*Ustilago avenae* (Pers.) Jens. and *Ustilago kolleri* Wills). « Ann. Appl. Biol. », XXIII, 245-263, 1936.

Id., Sexual fusion in *Ustilago avenae* under natural conditions. « Phytopath. », XXVII, 547-553, 1937.

Whitehouse H. L. K., A survey of heterothallism in the *Ustilaginales*. « Trans. Brit. Myc. Soc. », XXXIV, 340-335, 1951.

Whitfield J. E. and Murray R. G. E., A cytological study of the lysogenization of *Shigella dysenteriae* with P 1 and P 2 bacteriophages. « Can. Journ. Microb. », I, 216-225, 1954.

VINCENZO GRASSO

LA POSIZIONE DEI NUCLEI E DELLE GUTTULE NELLE ASCOSPORE DELLA *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) *MASSEE* - PROVE DI GERMOGLIAZIONE DI SCLEROZI DELLA SPECIE

Lo spunto di quanto dirò trae origine da una mia precedente Nota sulla *S. sclerotiorum* (GRASSO 1955) nella quale prospettavo l'ipotesi che le guttule che si segnalano nelle ascospore della specie (de BARY 1884) potrebbero essere identificate con i nuclei. Al tempo della pubblicazione della Nota (1955) per mancanza di materiale fresco, non potetti dimostrare se la mia supposizione fosse vera o no, per cui rimandavo le ricerche al futuro quando avessi avuto occasione di procurarmi altro materiale di *S. sclerotiorum*. Questo mi fu procurato dall'Istituto di Patologia forestale ed agraria della Università di Firenze, che sentitamente ringrazio, e per una casuale coincidenza proveniva da una coltura di sedano in S. Donnino (Firenze) dove lo avevo raccolto anche nel 1955 per preparare la mia detta Nota.

Il fungo fu coltivato su agar-patata-destrosio, substrato che fu scelto senza nessuno scopo particolare. Quando si suppose che gli sclerozi fossero fisiologicamente maturi, che cioè alla minima scossa si staccavano dal substrato o dalle pareti dei tubi, dove si erano attaccati durante il loro sviluppo, si presentò il problema di farli germogliare.

Per la Nota del 1955 tale operazione fu eseguita infossando gli sclerozi in sabbia umida, sottoponendoli dapprima ad una temperatura di 2-3 C° per due mesi e poi a quella ambientale di 18-19 C°, analogamente a quanto avevo fatto per le *Claviceps* (GRASSO 1952). La germogliazione ebbe luogo dopo circa 100 giorni quando sembrava che oramai le prove dovessero fallire.

Per l'incertezza di tale procedimento si pensò di sceglierne un altro più veloce e nello stesso tempo più sicuro.

Esaminando la vasta letteratura esistente al riguardo si rileva che molti metodi sono stati sperimentati : alcuni con vero successo, altri purtroppo con risultati poco lusinghieri.

Il più comune è quello di porre gli sclerozi su sabbia o terra, sterilizzate ed umide (Burger 1913 a - b, Ramsey 1925, Henson 1940, Demetriades 1951, Demetriades et Papaioannou 1953) ; meno frequentemente su agar-patata-destrosio (Gofrey 1923, Ramsey 1925, Mundkur 1934, Kseswalla 1934) ; su agar di granturco (mundkur 1934) ; su acqua agarizzata (Henson 1940) o su cotone umido in capsule Petri (Demetriades et Papaioannou 1953). Il tempo necessario per la germogliazione del materiale è molto vario : di 12-6-4 mesi oppure, come hanno dimostrato Dimitriades e Papaioannou (1953), di 22-28 giorni. Questo ultimo caso deve essere ritenuto una eccezione, poichè tale operazione richiede in genere un periodo di tempo molto più lungo, per cui le ricerche spesso procedono con lentezza.

Per la germogliazione del materiale da me tenuto in osservazione, ho voluto sperimentare un altro metodo, il quale non sembra sia stato molto usato, all'infuori di alcuni ricercatori : Bedi (1951, 1956) e Purdu (1955, 1956) ma soprattutto dal primo.

Esso consiste nel sospendere su acqua di fonte, contenuta in una capsula Petri di qualsiasi grandezza, naturalmente in rapporto alla quantità del materiale disponibile, sclerozi di *S. sclerotiorum* e di tenerli a temperatura di circa 18-20 C°, che spesso corrisponde a quella ambientale.

Allo scopo di preservare la superficie dell'acqua dalla polvere, che potrebbe danneggiare la germogliazione del materiale, la capsula non solo viene chiusa ma a sua volta è collocata in un'altra più grande ed anch'essa chiusa.

In questo modo erano allestite diverse capsule del diametro di 11 cm. e dopo averle riempite di acqua di fonte, vi si sospendevano numerosi sclerozi, provenienti da colture su agar-patata-destrosio. Senza entrare nei particolari delle fasi della germogliazione, che non erano lo scopo del mio lavoro, dopo 10-15 giorni notavo che gli sclerozi si presentavano come alla Tav. I, fig. 1. Molti di essi avevano emesso due o più peduncoli, lunghi 7-8 mm, del tutto ialini, brunastri solo nelle parti apicali. Al 20-22 giorno presentavano gli apoteci già abbozzati che si aprivano interamente dopo altri 10-20 giorni. Così che in complesso per la germogliazione completa occorrevano circa 30-34 giorni. Dopo tale

periodo nelle prime prove non ottenevo un'alta percentuale di germogliazione e di maturazione: solo alcuni apoteci si erano completamente aperti, i rimanenti erano appena abbozzati (Tav. I, fig. 2).

Una parte di tale materiale era trasferito su carta bibula molto umida in attesa che gli apoteci si aprissero completamente, come in realtà avvenne dopo circa 45 giorni (Tav. I, figg. 3 - 4).

In seguito, ripetendo le prove con molte capsule, in alcune di esse si raggiungeva una percentuale di maturazione molto alta: quasi dell'80-90%. Alcuni sclerozi si presentavano come nella Tav. II, fig. 1.

In questo modo avevo a mia disposizione molto materiale ed allo scopo di constatare se nelle ascospore le guttule ed i nuclei avessero o meno la medesima posizione, su un vetrino porta-oggetto schiacciavo diversi frammenti di apoteci. Dopo che erano fuorusciti gli aschi e le ascospore li trattavo con una o più gocce di Sudan III.

Dalle numerose prove constatavo che nelle ascospore le guttule in numero di una o più, possono avere una posizione mediana od apicale, ma mai costantemente in questo secondo modo, come per lo più si verifica per i nuclei. Quindi in conclusione le guttule ed i nuclei hanno tra di loro posizioni alquanto differenti ed anche se esse coincidono, ciò dipende da un fatto puramente casuale o non da una regola fissa.

Poichè le suddette prove di germogliazione mi avevano dato ottimi risultati, pensai di farne delle altre ponendo gli sclerozi sempre nell'acqua o in un ambiente molto umido ma in differenti condizioni. Precisamente: 1) su carta bibula bagnata; 2) immersi interamente in acqua di fonte; 3) immersi in acqua di fonte continuamente agitata; 4) su agar-patata-destrosio.

1) Per tali prove erano preparate delle capsule di 10-11 cm. di diametro e dopo averne rivestiti i fondi ed i coperchi con uno o due tondini di carta bibula imbevuti di acqua di fonte fino a rifiuto, vi si ponevano alcune diecine di sclerozi, da 50 a 100 in modo però che non fossero molto fitti. Coperta la capsula con l'altra metà, la si lasciava a temperatura ambiente, che al momento delle prove si aggirava sui 18-19 C°. Con il passar dei giorni, quando si notava che i tondini si erano prosciugati, si aggiungeva

nelle capsule altra acqua in modo da ribagnarli molto bene e ristabilire l'ambiente umido.

Sebbene con tale metodo si fosse adoperato molto materiale, tuttavia i risultati conseguiti furono poco lusinghieri poichè solo una minima parte degli sclerozi germogliava.

D'altra parte questo sistema veniva adoperato con pieno successo per un altro scopo : per ultimare la maturazione del materiale che era stato messo a germogliare sospeso in acqua, come ho specificato precedentemente. Difatti in tale ambiente, sia per l'accumulo della polvere sulla superficie dell'acqua e sia per l'affondamento a cui gli sclerozi erano soggetti quando alla capsula si agiungeva altra acqua, spesso gli apoteci si inquinavano e quindi non giungevano a completa maturazione. Allora conveniva trasferire il materiale su carta bibula molto umida, dove la maturazione si completava dopo circa 45 giorni (Tav. I, figg. 3-4).

2) Mentre gli sclerozi sospesi in acqua iniziavano a germogliare dopo qualche settimana e dopo 22-26 giorni i loro apoteci erano maturi, quelli completamente immersi, pur iniziando a germogliare dopo qualche settimana, non producevano gli apoteci dopo il sopradetto periodo di 22-26 giorni. Essi si formavano se si facevano emergere gli sclerozi, sia ponendoli in un'altra capsula rivestita di carta bibula molto umida e sia aspirando l'acqua superflua dalla capsula. Sembrava quindi che per la formazione degli apoteci fosse ncessaria una quantità di aria superiore a quella che normalmente si trova nell'acqua. Se invece gli sclerozi erano fatti rimanere immersi ancora più a lungo, per es. per 30-40 giorni, i peduncoli non formavano gli apoteci, ma subivano un continuo allungamento, tentando di raggiungere la superficie dell'acqua. Così essi diventavano sempre più fragili e sottili per cui anche se ad un certo punto per fare sviluppare gli apoteci si fosse voluto trasferire gli sclerozi in un'altra capsula con carta bibula molto umida, era impossibile farlo poichè i peduncoli si rompevano con la massima facilità.

Durante tale immersione numerosi peduncoli, oltre ad allungarsi eccessivamente, presentavano un altro peculiare fenomeno : a varie altezze emettevano delle protuberanze, che dapprima sembravano dei semplici rigonfiamenti, ma in seguito assumevano sempre più una chiara fisionomia fino a costituire dei nuovi peduncoli molto simili a quelli principali provenienti direttamente

dallo sclerozio. Essi si potevano originare lateralmente o apicalmente al peduncolo principale che in tale modo, a completa formazione, appariva pluriapoteciale.

Al solito per la formazione completa degli apoteci era necessario fare emergere il materiale dall'acqua e trasferirlo in un'altra capsula, rivestita di carta bibula molto umida. Tale formazione avveniva dopo 5-6 giorni.

La forma, la grandezza ed il colore degli apoteci di tali peduncoli ramificati non erano molto diversi da quelli dei medesimi organi prodotti sui peduncoli principali e così gli aschi e le ascospore, come mettevo in evidenza con sezioni a mano di materiale fresco.

La Tav. II, fig. 2 mostra alcuni esemplari di peduncoli ramificati con i relativi apoteci. Benchè nell'insieme essi sembrino molto complessi, tuttavia non sono gli esemplari più caratteristici di tale fenomeno. Ne esistevano degli altri ancora più significativi i cui peduncoli erano diversamente ramificati, ma che non era possibile ritrarre poichè estremamente fragili per essere mossi ed accomodati e nello stesso tempo molto sensibili alla luce quando si ritraevano le fotografie. Anche tali esemplari avrebbero dovuto essere meglio disposti soprattutto per mostrare più chiaramente le diverse ramificazioni dei peduncoli : ma alcuni infruttuosi tentativi fatti su di una parte del materiale, che purtroppo rovinavo, mi facevano desistere da ulteriori tentativi di accomodamento.

Il primo sclerozio a sinistra mostra il peduncolo principale *a* che ne ha prodotto altri tre, di cui due lunghi, uno piuttosto corto ed inoltre gli abbozzi di altri tre peduncoli che certamente sarebbero venuti a maturazione se il materiale fosse stato più lungo nell'ambiente adatto. Lo sclerozio centrale ha prodotto tre peduncoli *b* di cui uno solo, il più alto, si è ramificato in altri tre, due piccoli ed uno abbastanza lungo. Lo sclerozio di destra presenta due peduncoli *c* di cui uno alquanto contorto e l'altro eretto : a metà altezza è ramificato in altri quattro peduncoli, forniti dei relativi apoteci e di un abbozzo di una nuova probabile formazione.

Come dicevo tali peduncoli ramificati rappresentano gli esemplari più semplici tra quelli osservati e dato questo loro comportamento sono da ritenersi delle anormalità, poichè come è noto gli sclerozi di *S. sclerotiorum* quando germogliano producono uno o più peduncoli, portanti ciascuno un apotecio. Data però la frequenza con cui i peduncoli si sono ramificati, qualche volta fino

al 60-70% del materiale germogliato, possiamo senz'altro affermare che si tratta di una anormalità abbastanza frequente.

Quali possono essere state le cause di tali formazioni? Probabilmente: *a*) l'immersione del materiale in acqua; *b*) gli spostamenti ai quali esso è stato assoggettato durante le osservazioni quando si prendevano le capsule con le mani.

a) Si invoca la prima causa solo per esclusione poichè il materiale emerso non presentava tale fenomeno. Certamente in questo caso avrà avuto una grandissima importanza l'ossigeno e probabilmente la sua scarsezza avrà impedito la formazione degli apoteci mentre avrà provocato l'allungamento dei loro peduncoli e la conseguente ramificazione.

b) Per l'osservazione del materiale spesso le capsule erano prese in mano e nonostante si operasse con molta delicatezza, l'acqua era soggetta a piccoli spostamenti e con essa anche gli sclerozi. I loro peduncoli, geotropicamente negativi, cambiando spesso posizione, probabilmente saranno stati disturbati nel loro tropismo, per cui avranno reagito emettendo delle ramificazioni.

3) Il fatto che gli sclerozi immersi completamente in acqua e soggetti a qualche movimento avevano prodotto peduncoli pluriapoteciali, mi consigliò di appurare cosa sarebbe successo se essi fossero stati sottoposti ad un continuo movimento, per molti giorni. A tale scopo approntavo delle beute di 250 cc. e dopo averle riempite parzialmente di acqua, vi immergevo numerosi sclerozi: ponevo il tutto su di un piano agitatore sistemato in una stanza con temperatura di circa 18-19 C°.

La germogliazione iniziava dopo 20-25 giorni ed era caratterizzata dalla emissione di 7-8 peduncoli per ciascuno sclerozio, mentre in via ordinaria, in materiale non immerso e fermo se ne producevano 3-4. Essi erano tutti contorti, ripiegati sugli sclerozi e spesso sebbene alti qualche cm mostravano numerose ramificazioni. Ciò significava che il movimento non solo aveva accelerato la formazione dei peduncoli ramificati ma ne aveva aumentato anche il numero.

In seguito poichè il movimento dell'acqua faceva violentemente urtare i peduncoli che si allungavano contro le beute e spesso si frantumavano, per ottenere il loro completo sviluppo si trasferivano gli sclerozi in capsule Petri, rivestite di carta bibula molto umida. Quivi molti peduncoli infine si presentavano pluriapoteciali, molto simili a quelli della Tav. II, fig. 2.

4) Le prove di germogliazione del materiale su agar-patata-destrosio, si svolgevano in un modo molto semplice. Esse consistevano nel trapiantare in una cinquatina di tubi con il detto substrato, altrettanti inoculi del fungo, prelevati da una capsula. Quando si erano formati gli sclerozi e si pensava che essi fossero pronti poichè si staccavano abbastanza facilmente dal substrato, cioè dopo circa 40 giorni dall'inoculo, i tubi che fino allora erano rimasti affastellati in un cestello, erano sciolti ed esposti molto vicino alla luce proveniente da una finestra del laboratorio.

I risultati non erano molto incoraggianti, poichè di una cinquantina di tubi preparati ed esposti come ho detto di fronte ad una finestra, solo tre presentavano gli sclerozi germogliati, producenti brevi e tozzi peduncoli ed apoteci di forma e grandezza normali (Tav. II, fig. 3).

Il periodo trascorso dal momento dell'inoculo alla maturazione degli apoteci era complessivamente di circa 90-95 giorni, periodo piuttosto lungo se lo si confronta con quello necessario per la germogliazione del materiale sospeso in acqua, che come si è detto, si aggira sui 30-35 giorni, oltre ad un analogo periodo per la formazione e maturazione degli sclerozi.

Dopo quanto esposto si possono fare le seguenti considerazioni.

Il ceppo di *S. sclerotiorum* da me studiato ha germogliato e formato gli apoteci sulla superficie dell'acqua, analogamente a quanto facevano alcuni ceppi, uno canadese ed uno indiano da Punjab, dettagliatamente descritti da Bedi nella sua tesi di laurea svolta presso il Dipartimento di Patologia vegetale della Università del Minnesota (1951), tesi che ebbi occasione di consultare nel 1953 durante la mia permanenza colà. Tali ricerche sono ricordate dall'Autore in un successivo lavoro (Bedi 1956) e recentemente anche da Stakman ed Harrar nel loro trattato di Patologia vegetale (1957).

A differenza dei ceppi del Bedi che formavano gli apoteci anche nell'acqua, quello da me considerato li formava solo al di fuori di essa, in presenza forse di molto ossigeno : se, come dicevo, gli sclerozi rimanevano completamente immersi, i loro peduncoli si allungavano enormemente e si allargavano a formare gli apoteci solo quando quelli avevano raggiunto la superficie dell'acqua.

I peduncoli del materiale esaminato dal Bedi si ramificavano quando erano completamente immersi nell'acqua ; dalle mie osservazioni ho potuto constatare che essi si ramificavano non solo

quando si trovavano in queste condizioni, ma soprattutto quando erano sottoposti ad un continuo movimento.

Nonostante a proposito di tale argomento abbia consultato molta letteratura, tuttavia non sono riuscito a trovare altre citazioni oltre quelle del Bedi, nè tanto meno dalle indagini fatte ho potuto trarre elementi per formulare delle ipotesi e spiegare l'origine del fenomeno.

Come moltissimi funghi anche la *S. sclerotiorum* presenta il fenomeno del fototropismo (*). La Tav. III, fig. 1 rappresenta una capsula nella quale quasi tutti i peduncoli hanno una medesima direzione, verso il punto da dove, durante la germogliazione, proveniva la luce.

Tale fatto non si è potuto mettere in rilievo in tutte le capsule poichè in molte di esse, quando si riforniva l'acqua che evaporava gli sclerozi improvvisamente si sollevavano e si rigiravano su loro stessi. Difficilmente si rimettevano nella primitiva posizione con l'aiuto di un paio di pinzette o di qualche altro mezzo. L'unico modo per evitare lo spostamento del materiale era quello di versare l'acqua molto adagio ed in poca quantità. Quando gli apoteci si erano completamente aperti, non era consigliabile farli permanere più a lungo nell'acqua, poichè i loro peduncoli cominciavano ad imbrunire ed a presentare alla base diversi ammuffimenti. Questi erano prodotti soprattutto da *Tricothecium roseum* e alla fine si diffondevano anche sulla superficie degli sclerozi, ravvolgendoli in una massa bianco-rosea (Tav. III, fig. 1 i puntini più rilevati).

Il metodo da me descritto e con il quale credo di aver ottenuto dei buoni risultati, non può essere naturalmente generalizzato cioè applicato con sicurezza di successo per altri ceppi di *S. sclerotiorum*, poichè ognuno di essi, ha come è noto delle particolari esigenze fisiologiche. Tuttavia per alcuni potrebbe dare altrettanti buoni risultati per cui vale la pena sperimentarlo (**).

Alla fine del lavoro mi è grato ringraziare vivamente i Colleghi Dr. R. Basile e il Dr. M. Rosa per la preziosa collaborazione che mi hanno dato nel ritrarre alcune delle fotografie pubblicate.

(*) A questo riguardo si può consultare la bibliografia da me citata nel lavoro sulle *Claviceps* (Grasso 1952, pg. 108).

(**) Precedentemente esso era stato da me applicato con successo anche per la germogliazione di sclerozi di *Claviceps purpurea* da *Cynodon Dactylon* (Grasso 1956).

Riassunto. L'Autore dimostra che nelle ascospore della *Sclerotinia sclerotiorum* le posizioni dei nuclei e delle guttule ordinariamente non coincidono.

Inoltre egli espone alcune prove di germogliazione di sclerozi della specie di *Sclerotinia sclerotiorum*.

Esse sono consistite nel porre il materiale nelle seguenti condizioni: 1) sospeso in acqua; 2) su carta bibula molto umida; 3) immerso in acqua; 4) immerso in acqua continuamente mossa; 5) su agar-patate-destrosio.

Nelle condizioni 1-3-4 si è avuta una buona percentuale di germogliazione; in quelle 2-5 essa è stata molto bassa. La condizione 2 è consigliabile soprattutto per fare maturare gli apoteci già sviluppati negli altri modi.

Il tempo richiesto per la germogliazione del materiale è stato di circa 40-45 giorni, eccetto per quello nella condizione 5, per il quale sono stati necessari quasi 95 giorni.

Gli sclerozi immersi in acqua hanno presentato un caratteristico fenomeno: i peduncoli da loro sviluppati spesso si sono ramificati, producendo i relativi apoteci. Ciò si è verificato soprattutto quando i peduncoli si sono formati immersi in acqua continuamente mossa.

Summary. The Author refers that in ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum* the nuclei and the oil drops are generaly not coincident in position.

Moreover are carried out some of the experiments of apothecial production by this fungus.

The experiments being placing the material in following different conditions: 1) floating in water; 2) placing in wet dryng paper; 3) immersion in water; 4) immersion in continually agitated water; 5) placing in P.D.A.

In the conditions 1-3-4 had a good percentage of apothecial production, while in those of 2-3 the percentage was wery low.

The condition 2 is advisable for the full development of apothecia already produced by other methods.

The time necessary for the apothecial production is about 40-50 days with the exception for that of condition 5 for which it is necessary nearly 95 days.

The sclerotia immersed in water have shown a characteristic phenomenon. The stipes, developed from them, were very often branched, producing relative apothecia. That it happened specialy when the stipes were formed by immersing in agitated water.

BIBLIOGRAFIA

BEDI K. S., Factor affecting the formation of sclerotia, apothecia and survival of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. Ph. D. Thesis, University of Minnesota, Minneapolis, 1951.

ÍD., A simple method for producing apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, « Indian Phytopath. » IX, 39-43, 1956. (in R.A.M., XXXV, 610, 1957).

BURGER O. F., Lettuce drop. « Florida Agr. Exp. Sta. Bull. » 116 : 27-32, 1913 a.

ID., Lettuce drop. « Ann. Rept. Florida Agr. Exp. Sta. », pp. 88-90, 1913 b.

BURGWIRTZ G. K. and EREMEYEVA A. M., On the rèlationship of *Botrytis cinerea* Pers. to the genus *Sclerotinia* « Morbi plantarum, Leningrad ». XIII, 3-4, 102-111, 1924, (in R.A.M., V, 58, 1926).

de BARY A., Morphologie und Biologie der Pilze-Mycetozoen und Bacterien. pagg. 558, Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1884.

DÉMÉTRIADÉS S. D., Quelques observations sur le *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Massee. « Annales de l'Institut phytopathologique Benaki », V, 40-49, 1951.

DÉMÉTRIADÉS S. D. et PAPAIOANNOU A. J., Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Massee. V, La formation des apothécies sous les conditions de l'Attique (Grèce). « Annales de l'Institut phytopathologique Benaki », VII, 95-111, 1953.

GODFREY W. N., Gray mold of castor bean. « Jour. Agr. Res. (U.S.) », XXIII, 679-716, 1923.

GRASSO V., Le *Claviceps* delle Graminacee italiane. « Annali della Sperim. Agrar. », N. S., VI : I, II, III, IV, V, 746-1521, 1952.

ID., I nuclei delle ascospore della *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Massee e la loro eventuale identificazione con le guttule. « Annali della Sperim. Agr. », IX, 225-230, 1955.

ID., Un possibile metodo veloce per la germogliazione degli sclerozi di *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. « Boll. Stazione di Pat. Veget. », XIV, 243-247, 1956.

HENSON L., The production of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum* in culture. « Phytopath. », XXX, 869-873, 1940.

KSESWALLA K. F., Stem rot of tabacco caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. « Indian Journ. Agr. Sc. », IV, 663-673, 1934.

MUNDKUR B. B., A sclerotinia rot of *Hibiscus sabdariffa* L. « Indian Jour. Agr. Sc. » IV, 758-778, 1934.

NARASIMHAN M. J. and THIRUMALACHAR M. J., A *Sclerotinia* disease of *Orobanche cernua* in Bihar (India). « Phytopath. Zzitschrift », Band XXII, Heft 4, 421-428, 1954.

PURDY L. H. A broader concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. « Phytopath. » XLV, 421-427, 1955.

ID., Factors affecting apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum*. « Phytopath. » XLVI, 409-410, 1956.

RAMSEY G. B., Sclerotinia species causing decay of vegetables under transit and market conditions. « Journ. Agric. Research. », XXXI, 597-632, 1925.

STAKMAN E. C. and HARRAR J. G., Principles of Plant Pathology pagg. 581, The Ronald Press Company, New York, 1957.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tavola I

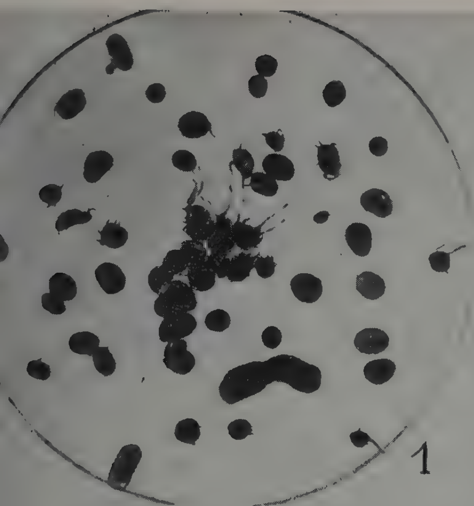
Germogliazione di sclerozi di *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Massee in capsule Petri sospesi in acqua di fonte. Fig. 1. — Inizio di germogliazione: dopo 10-15 gg. Fig. 2. — Germogliazione dopo 30-34 gg. Figg. 3 - 4. — Germogliazione iniziata in acqua di fonte e proseguita su carta bibula bagnata: dopo circa 45 gg.

Tavola II

Germogliazione di sclerozi di *S. sclerotiorum* eseguita in differenti condizioni. Fig. 1. — Gruppo di sclerozi germogliati sospesi in acqua di fonte: dopo 35-40 gg. Fig. 2. — Peduncoli *a, b, c,* di *S. sclerotiorum* variamente ramificati: materiale dapprima germogliato immerso in acqua e poi per la completa apertura degli apoteci trasferiti su carta bibula bagnata: dopo 45-50 gg. Fig. 3. — Germogliazione di sclerozi su agar-patata-destrosio in tubi: dopo 90 gg.

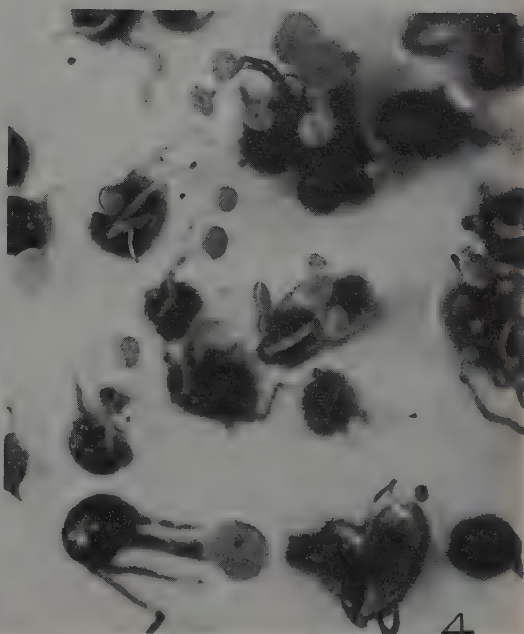
Tavola III

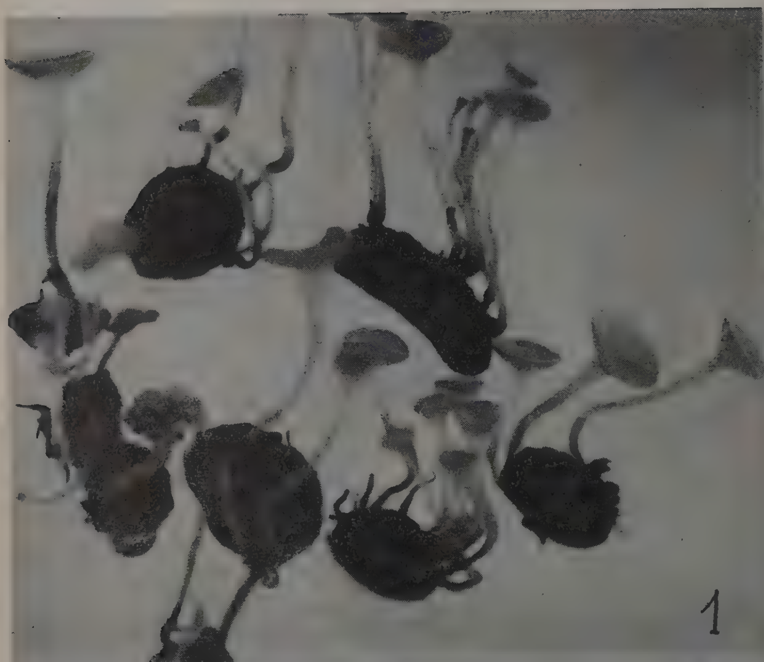
Fig. 1. — Eliotropismo di peduncoli da sclerozi di *S. sclerotiorum* germogliati sospesi in acqua: dopo 35-40 gg. Molti di essi ai bordi della piastra si presentano afflosciati e mostrano numerosi ammuffimenti da *Tricothecium roseum.*

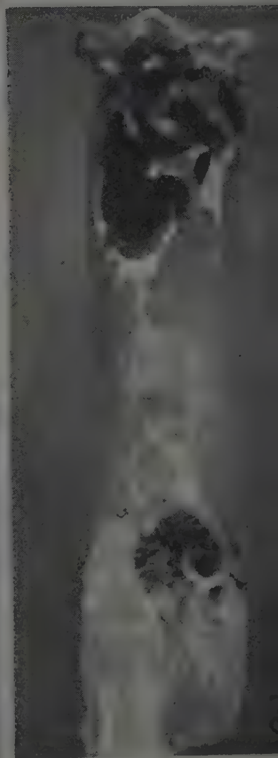

1

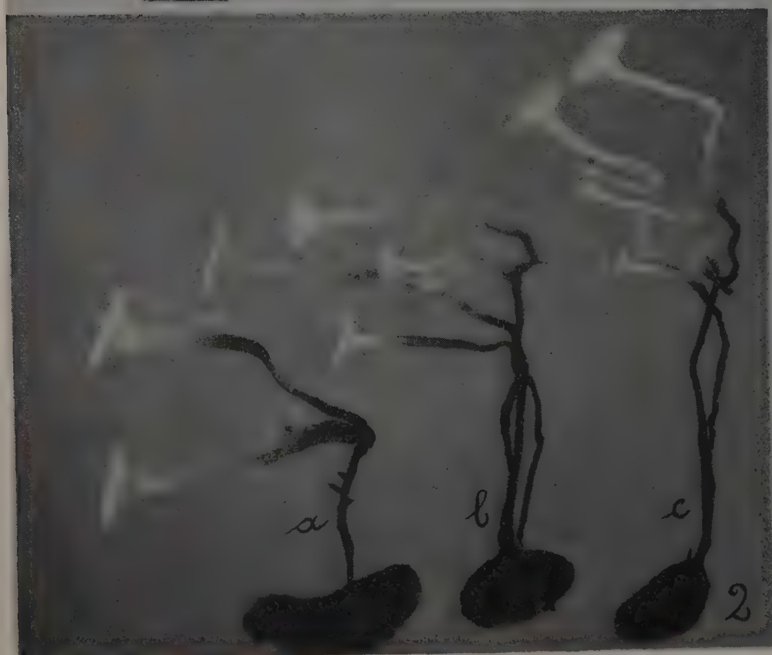

2

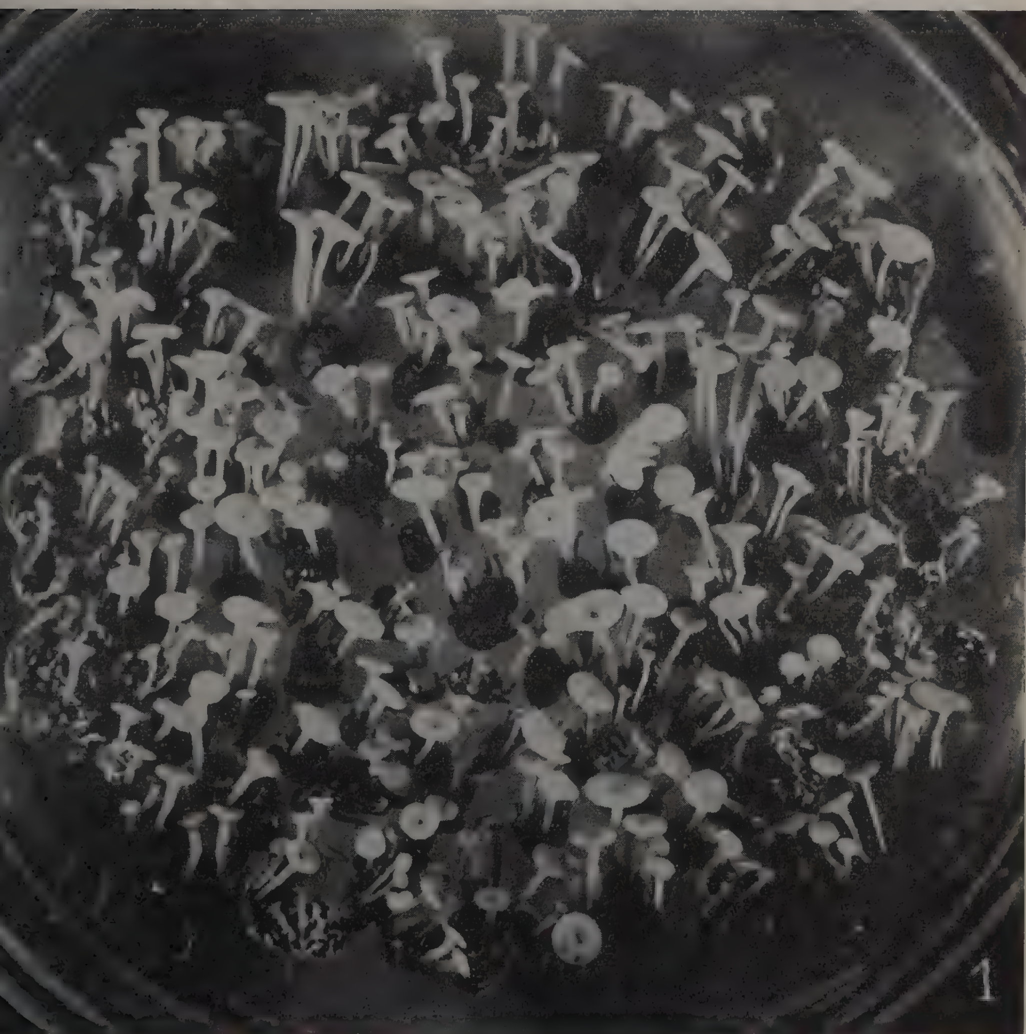

3


4


1




a
b
c
2


1

Franco Gualaccini

UNA VIROSI DELLA ROSA NUOVA PER L'ITALIA SUOI RAPPORTI CON LE VIROSI DEI FRUTTIFERI

Nel maggio scorso ci sono pervenute in esame, dalla zona di Montecastello di Vibio (Perugia), piante di *Rosa* sp. le cui foglie presentavano un'alterazione assai vistosa e caratteristica.

Essa ci è apparsa facilmente riferibile ad una malattia da virus del « complesso » distinto da molti AA. col nome di « mosaico ».

I sintomi consistono in : linee gialle ad andamento sinuoso, diffuse spesso in prossimità dei margini fogliari o della punta delle foglie ; maculature gialle decorrenti simmetricamente sulle due metà della lamina fogliare, a volte delimitanti aree a forma di foglia di quercia di colore verde normale ; aree gialle, per lo più a contorni parzialmente o totalmente sfumati, estese nella parte centrale delle foglie o penetranti dai margini di queste tra le nervature, o coincidenti con tratti di nervature ed aree perinervali ; picchiettature gialle localizzate o sparse irregolarmente sulla superficie fogliare (Figg. 1 e 2).

Tali manifestazioni presentano una notevole analogia con quelle descritte da Thomas e Massey (1939) per un « mosaico » della rosa denominato « Rose Mosaic 3 », identificabile, insieme al « Rose Mosaic 2 », con il « Yellow Mosaic » di Brierley e Smith (1940).

In una visita effettuata sul luogo di provenienza delle rose suddette non sono stati osservati altri sintomi ; i fusti e tutte le altre parti delle poche piante colpite sono apparsi sani, e anche lo sviluppo di queste ultime è sembrato normale. Gli esami di laboratorio non hanno permesso di rilevare in alcun modo la presenza di parassiti vegetali o animali cui attribuire l'alterazione, nè ci è sembrato di dover pensare a disturbi fisiologici come causa della medesima.

Delle piante affette, allevate a cespuglio insieme ad altre dall'apparenza normale, non ci è stato possibile riconoscere con esattezza la cultivar.



Fig. 1. — Sintomi di malattia su foglie di rosa.

Caratteristiche della virosi della rosa

È noto che oltre che dal « mosaico giallo » (« yellow mosaic ») la rosa può essere colpita da altre virosi, che sono principalmente : la « clorosi infettiva » o « mosaico » (« infectious chlorosis » o « typical rose mosaic » o « mosaic »), l'« accartocciamento » (« cowlform »), la « screziatura » (« streak ») e l'« avvizzimento » (« wilt » o « dieback »).

A quel che ci consta, in Italia prima d'ora è stato segnalato soltanto un « avvizzimento » virosico della rosa da Gigante (1936).

Brierley e Smith loc. cit. hanno rilevato l'esistenza di cinque varianti o « ceppi » (« strains ») del virus del « mosaico giallo », con notevole diversità di sintomi, sia sulle cinque differenti varietà di rosa delle piante trovate naturalmente infette, sia sulla varietà Madame Butterfly alla quale essi hanno trasmesso ciascun «ceppo».

La trasmissione della malattia è stata ottenuta facilmente dagli stessi AA., su rose suscettibili, mediante diversi metodi di innesto, ma non per inoculazione di succo. L'intervallo tra l'esecuzione

dell'innesto e la comparsa dei sintomi è risultato variabile da 17 a 40 giorni, e, sotto condizioni meno favorevoli, da 6 a 7 mesi. La malattia non si è trasmessa quando la marza o la gemma malata innestata è morta, oppure è stata rimossa prima che avesse avuto luogo l'unione, cioè la saldatura dei tessuti, con la pianta inoculata.



Fig. 2. — Altri sintomi di malattia su foglie di rosa.

Assai importanti ci sono sembrati i risultati di indagini volte ad appurare l'esistenza di rapporti tra le virosi della rosa e quelle degli alberi da frutto.

Già nel 1932 Valleau, trattando di una virosi del susino e del pesco, ha parlato di un'analoga alterazione, avente sintomi del tipo della «maculatura ad anello» («ring spot»), su piante di rosa.

Johnson e Valleau (1935) hanno rilevato altresì l'esistenza di malattie da virus, caratterizzate prevalentemente dalla formazione di anelli clorotici e necrotici, su diverse piante, tra cui il melo, il susino e la rosa. Nello stesso tempo Christoff (1935), per la prima volta, ha accennato a un «mosaico» della rosa trasmissibile al melo e al pero.

Thomas (1937) ha trasmesso alla rosa il «mosaico» comune del melo, ottenendo come sintomo principale una marcata costrizione e clorosi in zone situate in prossimità della nervatura mediana delle foglioline. Tale sintomo è apparso alquanto simile a quello prodotto sulla rosa dal «Rose Mosaic 2» di Thomas e Massey loc. cit.

Successivamente questi ultimi AA. oltre a detto «mosaico» hanno potuto trasmettere un «mosaico» del pesco designato come «Winters peach mosaic»; esso è stato trasmesso altresì da Thomas e Rawlins (1939). I sintomi consistono soprattutto in una clorosi fogliare localizzata lungo le nervature e le aree adiacenti.

Sempre Thomas e Massey loc. cit. hanno trasmesso al melo il «Rose Mosaic 3», ottenendo sintomi accentuati di «mosaico», simili per qualche aspetto al «mosaico» comune del melo, ma privi della pronunciata decolorazione delle nervature di questa ultima malattia e maggiormente tendenti alla produzione di linee clorotiche e anelli.

Prove di inoculazione della malattia

Da quanto sopra appare evidente che la rosa può costituire una sorgente potenziale di infezioni virosiche anche per i fruttiferi.

Ci sembra superfluo rilevare l'importanza assunta dalle virosi degli alberi da frutto in Italia, la diffusione delle quali è andata vieppiù crescendo in questi ultimi anni.

Tali motivi ci hanno però indotto, nel cercare di appurare la eventuale natura virosica dell'alterazione sopra descritta, a effettuare ulteriori indagini sui rapporti intercorrenti tra le virosi della rosa e quelle dei fruttiferi.

Uno dei più comuni metodi di diagnosi delle malattie da virus dei vegetali consiste, come è noto, nel «saggio» di esse su

piante « indicatrici », cioè nell'inoculazione del virus o dei virus che le producono su ospiti aventi la proprietà di reagire in presenza appunto di determinati agenti infettivi. Nel caso delle virosi degli alberi da frutto le specie « indicatrici » adoperate sono prevalentemente arboree, e l'inoculazione viene effettuata quasi unicamente mediante innesto.

Al momento in cui ci è capitato di occuparci della malattia in questione disponevamo, tra le « indicatrici », di alcune piante di *Prunus serrulata* Lindl. della cv. Kwanzan (*). Trattasi di una varietà di ciliegio da fiore che reagisce in presenza di molti « ceppi » del « complesso » virosico denominato « maculatura ad anello » (« ring spot ») degli alberi da frutto. Secondo le constatazioni di Milbrath (1952) e di altri AA. taluni « ceppi » di tale « complesso » sono anzi talmente virulenti da determinare, se inoculati su giovani piante di Kwanzan, la morte delle medesime. Abbiamo avuto personalmente occasione di osservare più volte, durante una nostra missione di studio negli Stati Uniti d'America, tale caratteristica reazione.

È da tenere presente inoltre, come accennato in precedenza e come riportato anche da Cochran e da altri AA. (1951), che tra le piante naturalmente infette, sulle quali è stata rilevata la presenza dell'agente della suddetta « maculatura ad anello », figurano numerose specie e varietà del genere *Prunus*, nonchè il genere *Rosa*.

Verso la fine del maggio 1957 abbiamo dunque effettuato prove di inoculazione della malattia della rosa sulle piante di Kwanzan. Data la stagione inoltrata non abbiamo potuto eseguire innesti « ad occhio », bensì abbiamo adottato il metodo del trapianto di tessuti (« chip-budding »).

Sottili porzioni di corteccia prive di gemma, insieme a un poco del legno sottostante, sono state prelevate da giovani rami di rosa malata e inserite in corrispondenti intacchi, praticati, assai superficialmente, sulla corteccia di rametti di Kwanzan. Dopo circa un mese e mezzo abbiamo constatato un'abbondante emis-

---

(*) Dette piante, sulle quali non erano state mai riscontrate affezioni virosiche, appartenevano a due cloni diversi: uno europeo e uno nordamericano. Le prime ci erano pervenute allo stato di piantine; delle seconde invece ci erano state fornite, come « saggiate » ed esenti da virus, soltanto le marze. Queste erano state da noi innestate su un clone di ciliegio selvatico da ritenersi esente da virus, perchè dagli innesti effettuativi, sia con la suddetta cv., sia con la cv. Shirofugen di *P. serrulata*, sia con cv. di ciliegio dolce, non si era prodotta alcuna reazione, nè si erano manifestati sintomi di sorta sulle piante ottenute.

sione di gomma in prossimità dei punti di inoculazione nei casi in cui le « linguette » innestate avevano attecchito, mentre sulle foglie e sui germogli più vicini a tali punti incominciava a manifestarsi un processo di disseccamento. Abbiamo seguito giorno per giorno tale disseccamento ; esso si è esteso progressivamente e rapidamente, raggiungendo in 40-50 giorni tutte le parti delle piante.

Su una delle piante « saggiate » abbiamo voluto provare ad interrompere la diffusione dell'agente della malattia asportando il ramo inoculato non appena dimostratosi completamente secco, il che è avvenuto nel giro di una decina di giorni dall'inizio del disseccamento (Fig. 3). Siamo riusciti in tal modo a salvare la giovane pianta, la quale ha continuato a vegetare regolarmente e non ha più mostrato alcun sintomo di malattia.

D'altro canto piante di Kwanzan inoculate, pressochè contemporaneamente a quelle di cui sopra, con altre malattie dei fruttiferi non hanno dato in nessun caso tale eccezionale reazione ; altre infine, lasciate per controllo, sono rimaste del tutto normali.

Discussione dei risultati

La reazione ottenuta dall'inoculazione della malattia della rosa su Kwanzan dimostra, a nostro parere, la presenza sulla rosa di un « ceppo » assai virulento (« severe strain ») del « complesso » virosico della « maculatura ad anello » degli alberi da frutto (*).

(*) Tale reazione richiama anche quella ottenuta da Brierley e Smith loc. cit. inoculando la malattia della « screziatura » (« rose streak ») su talune varietà di rosa : dopo qualche settimana o mese si è prodotta necrosi dei tessuti vicino al punto di innesto e morte del rametto inoculato, con persistenza delle foglie secche sul rametto medesimo.

Detti AA. non hanno ottenuto la ritrasmissione della malattia per mezzo di gemme prelevate anche molto in prossimità del punto di inoculo, e perciò hanno pensato trattarsi di un virus strettamente contenuto nell'area necrotica. Parimenti avendo asportato da piante inoculate le parti affette da lesioni necrotiche ed essendo tali piante, dopo ciò, apparse esenti dalla malattia, hanno eseguito su di esse successive reinoculazioni ; queste hanno riprodotto gli stessi caratteristici effetti necrotici delle prime inoculazioni. Gli AA. non hanno mancato di rilevare come tale fatto sia di solito riguardato come segno evidente che il virus sia localizzato piuttosto che sistemico. Tuttavia essi hanno menzionato casi in cui a seguito delle inoculazioni si sono prodotte lesioni necrotiche anche su rami situati al disotto del punto di inoculo, come pure casi in cui, pur avendo asportato la gemma malata dal ramo su cui era stata innestata, le lesioni si sono propagate verso il basso raggiungendo altri rami e determinandone il disseccamento.

Purtroppo non è dato conoscere nulla circa la reattività del Kwanzan verso tale malattia.



Fig. 3. — Reazione ottenuta su *Prunus serrulata* cv. Kwanzan in seguito a inoculazione della malattia della rosa. Il ramo inoculato, mediante trapianto di tessuto (« chip-budding »), si è seccato, dopo aver emesso abbondante gomma in prossimità dei punti di inserzione delle « linguette » malate. Tutte le foglie secche sono rimaste attaccate ad esso. La propagazione dell'infezione, e quindi del disseccamento, alle altre parti della pianta è stata impedita con la tempestiva asportazione del ramo stesso.

Se ciò non fosse si dovrebbe ammettere l'esistenza di un virus diverso dal predetto « ceppo » della « maculatura ad anello » verso cui il *Prunus serrulata* var. Kwanzan reagirebbe allo stesso modo che verso quest'ultimo. Di conseguenza detta varietà di ciliegio da fiore non sarebbe così specificamente « indicatrice » nei confronti del « complesso » virosico della « maculatura ad anello » come oggi si ritiene.

Prove di inoculazione della suddetta malattia della rosa, effettuate su alcune piante da frutto di specie diversa, contemporaneamente a quelle su Kwanzan, non hanno dato sino ad ora alcun risultato. Ciò non meraviglia se si tien conto, ad es., di quanto riportato da Thomas e Rawlins loc. cit., secondo i quali rose inoculate col « Rose Mosaic 2 » e col « Rose Mosaic 3 » non hanno mostrato alcun sintomo fino a 18 mesi dopo l'inoculazione. Nel caso nostro abbiamo però constatato, purtroppo per la maggior parte delle inoculazioni, la mancanza di attecchimento delle « linguette » innestate. D'altro canto non si può sperare di poter ripetere la prova con le piante di rosa affette dalla malattia, perchè esse sono state, a quanto dichiaratoci dalla proprietaria, asportate e distrutte.

I risultati dell'esperimento non autorizzano ad attribuire con certezza al predetto « ceppo » virosico il « mosaico giallo » della rosa, con cui, in base ai sintomi fogliari, la malattia di cui trattasi sembra identificarsi. Tuttavia se, a quanto riporta Smith (1957), il « mosaico giallo » è prodotto probabilmente da più virus, ci sembra si possa ritenere con una certa fondatezza che il suddetto « ceppo » della « maculatura ad anello » sia una delle cause della malattia. Se invece il « mosaico giallo » è prodotto da un solo virus, come Brierley e Smith loc. cit. hanno dimostrato essere per il « mosaico » della rosa, crediamo ragionevole supporre che tale virus sia lo stesso « ceppo » da noi identificato. Ciò perchè ci è più difficile pensare che un « ceppo » virosico tanto virulento possa essere presente sulle rose malate in uno stato puramente latente, ossia senza avere alcun rapporto con la malattia.

In ogni caso rimane, a nostro parere, il fatto, e riteniamo utile segnalarlo, che anche in Italia la rosa può ospitare i virus dei fruttiferi ; ciò induce a considerare altresì la possibilità che tale pianta abbia a costituire una sorgente potenziale di diffusione delle virosi di queste piante.

Non si conoscono metodi di lotta contro il « mosaico giallo », come non si conosce alcun insetto vettore di esso. La distruzione delle piante malate è certamente una norma prudenziale assai saggia, ma ciò che è da evitare in modo assoluto è il prelevamento da esse di materiale per la propagazione.

La possibilità di « saggiare » su Kwanzan i portainnesti o le marze usate per la moltiplicazione della rosa, onde appurare la presenza o meno del suddetto « ceppo » virosico della « macula-

tura ad anello », ci sembra meriti di essere considerata anche ai fini di una pratica attuazione.

L'esperienza suddetta, a nostro avviso, contribuisce infine ad avvalorare l'ipotesi che molte delle virosi delle piante sino ad ora attribuite a virus diversi sono in realtà prodotte da medesimi agenti infettivi, o quanto meno da « ceppi » appartenenti a medesimi « complessi » virosici, le cui manifestazioni variano a seconda delle specie e delle varietà di piante ospiti.

RIASSUNTO. È descritta una malattia della rosa con sintomi riferibili al « mosaico giallo » (« yellow mosaic »). Prove di inoculazione di essa, mediante trapianto di tessuti (« chip-budding »), su *Prunus serrulata* cv. Kwanzan hanno avuto come risultato la morte di queste piante.

In una pianta di Kwanzan è stato asportato il ramo inoculato appena risultato completamente secco, ma prima che la malattia si fosse diffusa agli altri rami. Tale pianta ha continuato a vegetare regolarmente e ad apparire sana.

Data l'analogia della reazione con quella prodotta sul Kwanzan da un « ceppo » assai virulento (« severe strain ») del virus della « maculatura ad anello » (« ring spot ») degli alberi da frutto, si è dedotta la presenza di tale « ceppo » sulle rose malate.

Si è accennato altresì alla possibilità che la rosa abbia a costituire una sorgente potenziale di infezioni virosiche per i fruttiferi.

SUMMARY. A rose disease with symptoms much similar to the « yellow mosaic » is described. Inoculations of it, by chip-budding, on Kwanzan variety of *Prunus serrulata* Lindl. produced the death of these plants. In one plant of Kwanzan, the inoculated twig has been cut away as soon as it appeared withered, and the remaining parts of the plant do not showed further symptoms of the disease.

Because the analogy of this reaction with that one produced on Kwanzan by a severe strain of ring spot virus of the fruit trees, it has been deduced the presence of such a strain on the diseased roses.

It has been also supposed that the rose may represent a potential source of virus for fruit trees.

BIBLIOGRAFIA

BRIERLEY P. e SMITH F. F., Mosaic and Streak Diseases of Rose. « Jour. Agric. Res. », LXI, 9, 625-660, 1940.

CHRISTOFF A., Mosaikfleckigkeit, Chlorose und Stippenfleckigkeit bei Äpfeln, Birnen und Quitten. « Phytopath. Zeitschr. », VIII, 285-296, 1935.

COCHRAN L. C., HUTCHINS L. M., MILBRATH J. A., STOUT G. L. e ZELLER S. M., Ring spot. In : Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. Dept. Agr., Agriculture Handbook 10, pagg. 71-80, 1951.

GIGANTE R., Una nuova virosi della rosa in Italia. « Boll. Staz. Pat. Veg. Roma », N. S., XVI, 76-94, 1936.

JOHNSON E. M. e VALLEAU W. D., The ring symptom of virus diseases of plants « Kentuky Agr. Expt. Stat. Bull. », n. 361, 239-263, 1935.

MILBRATH J. A., Selecting stone fruit trees free from virus diseases. « Agric. Exp. Stat., Oregon State College, Corvallis Stat. Bull. n. 522 », pagg. 27, 1952.

THOMAS H. E., Apple mosaic. « Hilgardia », X, 14, 581-588, 1937.

THOMAS H. E e MASSEY L. M., Mosaic Diseases of the Rose in California. « Hilgardia », XII, 10, 647-663, 1939.

THOMAS H. E. e RAWLINS T. E., Some Mosaic Diseases of Prunus Species. « Hilgardia », XII, 10, 623-644, 1939.

SMITH K. M., A tewtbook of Plant Virus Diseases. 2 Ediz., pagg. 652, J. & A. Churchill Ltd., London 1957.

VALLEAU W. D., A virus disease of plum and peach. « Kentuky Agr. Expt. Stat. Bull. », n. 327, 89-103, 1932.

Osvaldo Lovisolo

VIRUS E PIANTE SPONTANEE

I. « Mosaico lieve del *Lamium* » nuovo virus di tipo maculatura anulare (*)

CONTENUTO

(*) La parte sperimentale di questo lavoro è stata compiuta nel 1953 presso il « Virus Research Unit, Agricultural Research Council » di Cambridge (Inghilterra) grazie ad una borsa di studio del Ministero della Pubblica Istruzione.

Introduzione

Le piante spontanee sia quelle non direttamente dannose all'agricoltura che quelle infestanti, velenose, ecc., sono assai frequentemente attaccate da parassiti che, se in qualche caso possono essere utili all'economia umana in quanto limitano l'eccessiva diffusione di specie dannose, nella maggioranza dei casi sono, o possono essere, nocivi a piante utili.

Gli esempi di parassiti di piante agrarie che possono vivere e moltiplicarsi a spese di piante spontanee sono numerosi in Patologia vegetale ed Entomologia agraria, ma i rapporti fra ospite spontaneo e patogeno rivestono per i virus un particolare interesse, maggiore che per gli altri parassiti. Si pensi alle numerose piante spontanee (*Datura Stramonium*, *Tetragonia expansa*, diverse specie di *Chenopodium*, di *Physalis*, di *Lycium*, ecc.) che sono usate come ospiti differenziali poichè reagiscono in modo caratteristico ad alcuni virus.

Ma la grande importanza che hanno le piante spontanee per la conservazione e la diffusione dei virus è legata sopratutto a due caratteristiche di questi ultimi : la possibilità di essere attivamente trasmessi da insetti vettori, che talora vivono su un grande numero di piante (tipico è l'esempio dell'afide *Myzus persicae*), e l'estesa gamma di reazioni degli ospiti all'infezione virosica fra cui la tolleranza completa del patogeno (infezione mascherata) assai frequente fra le piante spontanee a causa della selezione naturale. L'agricoltore può quindi avere in prossimità dei suoi campi meticolosamente curati piante spontanee apparentemente sane ed innocue, ma invece piene di virus, che possono essere fonte, talora perenne, di virosi per le sue colture.

Numerose sono le segnalazioni di virus economicamente importanti trovati in piante spontanee, ma assai lunga ne sarebbe l'elencazione. Ricordo soltanto che da tempo per diminuire i danni recati da questi virus si raccomanda la distruzione di quelle piante infestanti che possono ospitarli. Inoltre da alcuni anni si sono aggiunti a queste segnalazioni casuali studi particolari compiuti con il precipuo scopo di indagare la diffusione e la natura dei virus ospitati in piante spontanee.

MacClement e Richards (1956) esaminando la frequenza e la distribuzione delle virosi delle piante spontanee nel loro am-

biente naturale (un Giardino botanico) trovarono che ben poche specie non erano soggette ad eventuali infezioni e che la percentuale totale annua di piante infette fu approssimativamente del 10% della popolazione esaminata.

Alice HEIN (1956, 1957a, 1957b) in una serie di lavori ha portato un notevole contributo alla conoscenza dei virus delle erbe infestanti segnalando oltre ad un probabile nuovo virus della *Ballota nigra* (vedi nota 1 a pag. 103) nuovi ospiti pontanei di virus molto importanti dal punto di vista economico quali il virus del mosaico del cetriolo e quello del mosaico dell'erba medica.

Con lo studio dei virus delle piante spontanee si riescono talora a spiegare fatti oscuri relativi a virosi di piante agrarie. CADMAN (1956) ad es. non riuscendo a capire come si propagasse il « raspberry ringspot virus » — dato che la fonte di virus non sembrava essere nè nei *Rubus* selvatici nè nelle colture di lamponi — indagò fra le erbe infestanti e oltre a dimostrare che il virus del lampone poteva infettare sperimentalmente erbacce e barbabietola da zucchero, trovò in piantagioni di lamponi numerose erbe infestanti e barbabietole da zucchero infette da virus di tipo maculatura anulare molto simili, ma non identici, a quello del lampone. HARRISON (1957) approfondì lo studio di tali virosi e dimostrò che erano dovute ad un virus probabilmente nuovo (« beet ringspot virus ») il quale ha in comune con il « raspberry ringspot virus » l'importante caratteristica di essere conservato e trasmesso nel terreno.

Studiando le virosi delle piante spontanee si isolano per lo più virus già noti, ma non è raro trovare anche virus nuovi che possono sovente infettare piante diverse da quelle in cui furono scoperti. Questi virus sono indubbiamente una delle cause principali della comparsa di nuove virosi nelle piante agrarie. Essi potranno infatti rimanere per lungo tempo limitati al loro ospite naturale, specialmente se trasmessi in modi particolari — mediante i semi, la moltiplicazione agamica, insetti monofagi od oligofagi, ecc. — ma sarà sufficiente la casuale visita delle piante infette da parte di un insetto poligafo in grado di estrarre il virus per diffonderlo in piante coltivate od in altre piante spontanee più frequentemente visitate da attivi vettori.

Mosso da queste considerazioni ho effettuato, a partire dal 1953, osservazioni sulle virosi delle piante spontanee isolandone e studiandone i virus più importanti.

Questo primo lavoro tratta di un virus probabilmente nuovo che ho isolato per la prima volta da *Lamium album* e che perciò

ho chiamato « virus del mosaico lieve del *Lamium* ». La determinazione fu piuttosto laboriosa poichè in più casi il virus era associato ad altri : per lo più al virus del mosaico del cetriolo e ad un virus del Lamium anch'esso apparentemente nuovo avente la caratteristica di produrre lesioni locali necrotiche in fagiolo e *Vigna sinensis* e di non essere trasmissibile al tabacco.

METODI DI LAVORO

Le varie esperienze di determinazione sia del VMLL (1) che degli altri virus isolati da piante spontanee (i cui risultati saranno oggetto di ulteriori note) furono compiute seguendo le tecniche usate ed insegnate nel « Virus Research Unit » di Cambridge che qui brevemente riassumo.

Gli ospiti differenziali coltivati in vaso, in terriccio uniforme preparato secondo le formule di John Innes, furono tenuti in serre atte ad impedire l'ingresso di insetti. La maggioranza delle piante provenivano da seme ; solamente parte dei *Lamium*, delle altre Labiate saggiate e poche altre piante furono raccolte in natura, disinfestate, trapiantate in serra e saggiate per controllare eventuali infezioni mascherate.

Le inoculazioni meccaniche furono eseguite spolverando lievemente le foglie delle piante rivelatrici con carborundo finissimo (2) e strofinandone poi la pagina superiore col polpastrello di un dito bagnato di succo infetto che era stato di solito ricavato dalle foglie delle piante virosate, o sospette, pestandole in mortaio e riducendole in poltiglia. Le piante inoculate vennero poi lavate con acqua.

Calcolai il « punto di inattivazione termica » generalmente su 1 cc. di succo introdotto in una sottile provetta di vetro (senza bagnarne la parete superiore) tenuto per 10 minuti alla temperatura voluta che controllai direttamente nel succo agitandolo di continuo e raffreddandolo poi rapidamente al termine della prova.

Il « punto di diluizione limite » lo effettuai diluendo 1 cc.

---

(1) VMLL è l'abbreviazione di « virus del mosaico lieve del *Lamium* » che userò in questo lavoro. Onde evitare confusioni i nomi degli altri virus citati sono quelli in inglese dati da Smith (1957) nella nuova edizione del Suo Trattato oppure, per i pochi casi non contemplati da quest'Autore, dalla R.A.M. (1957).

(2) Apposite esperienze dimostrarono l'azione positiva del carborundo nell'aumentare il grado d'infettività del VMLL.

(oppure 0,5 cc.) di succo di piante infette in 9 (oppure 4,5 cc.) di acqua ed eseguendo poi le successive diluizioni con pipette sterili.

Feci i saggi di « longevità *in vitro* » conservando in provette di vetro a temperatura di laboratorio il succo estratto dalle piante ammalate.

Effettuai le varie prove di protezione incrociata seguendo la tecnica classica che consiste nell'inoculare determinate piante con il virus che determina infezione sistemica a sintomi blandi e, ad infezione avvenuta, reinoculare parti di tali piante (per lo più le metà longitudinali o trasversali delle foglie più suscettibili) con il virus che produce lesioni locali o sintomi sistemici più evidenti.

La maggior parte di questi saggi vennero ripetuti in diverse stagioni.

Eseguii le prove di trasmissione a mezzo di insetti deponendone sulle piante virosate un certo numero (per lo più tenuti a digiuno per un determinato tempo) provenienti da allevamenti artificiali fatti in apposite gabbie ; li trattenni sulle varie piante in esperimento mediante grossi vetri di lucerna chiusi con garza (v. pag. 141 di SMITH e MARKHAM, 1954). Lasciai gli afidi che supponevo infetti per almeno un giorno sulle piante rivelatrici dopo di che li uccisi con irrorazioni di nicotina.

Parte I

OSSERVAZIONI IN NATURA

Ospiti naturali

Gli ospiti naturali del VMLL, finora trovati, appartengono a due soli generi della famiglia delle Labiate : *Lamium album* L., *L. purpureum* L., *Marrubium vulgare* L. e *M. peregrinum* L.

In linea di massima il VMLL produce in queste piante sintomi assai lievi (fig. 1), sovente simili ad alterazioni che — pur rientrando nel quadro sintomatologico delle malattie da virus — non sono di natura infettiva, ma dovute verosimilmente ad altre cause quali la scarsezza di luce (lievissimi mosaici), tossicosi per punture di artropodi (schiarimenti delle nervature, piccole aree clorotiche com'è visibile nella fig. 1, deformazioni, piccole soluzioni di continuità, ecc.), alterazioni di natura genetica (variegature), ecc.

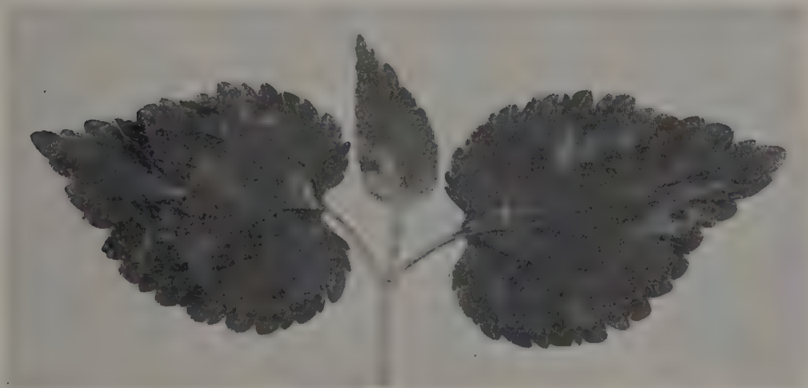


Fig. 1. — Infezione naturale in *Lamium album*. Lo schiarimento di brevi tratti di nervature ed il lieve mosaico sono dovuti al VMLL ; i puntini bianchi sulla metà inferiore della foglia di sinistra sono lesioni prodotte da ragnetti rossi.

« Lamium album », natural infection. Vein clearing and mild mosaic are the symptoms of LMMV. The white spots on the lower half of the left leaf are the effect of attack by red spider.

Questi fatti, unitamente alla caratteristica delle piante infette di poter mascherare i sintomi, rendono non facile il ritrovamento del virus ed è probabile che ben difficilmente avrei scoperto il VMLL se non mi fossi occupato di altre alterazioni più vistose (piccole enazioni su foglie di *Ballota nigra* L.) per lo studio delle quali ispezionai diversi gruppi di Labiate spontanee.

Dal primo isolamento del virus che effettuai nel giugno 1953 da *Lamium album* raccolto sulla scarpata di un fosso della strada Cambridge-Histon tentai, nel periodo che va dal giugno al novembre 1953, complessivamente 62 isolamenti partendo dalle Labiate, per la maggior parte spontanee, elencate nella tabella I; solamente alcune di esse erano coltivate come piante ornamentali (*Coleus Blumei* Benth.) od officinali (*Salvia officinalis* L.) mentre poche altre provenivano dal Giardino botanico di Cambridge.

TABELLA I

ELENCO DELLE LABIATE DA CUI TENTAI L'ISOLAMENTO DEL VMLL.

Specie	Stato delle piante (1)	Numero delle piante		Percentuale di infezione
		saggiate	infette	
Ballota hispanica Benth.	G	1	0	0
Ballota nigra L.	S	4	0	0
Coleus Blumei Benth.	C	1	0	0
Lamium album L.	S	29	10	34,48 %
Lamium amplexicaule L.	S	1	0	0
Lamium maculatum L.	S	2	0	0
Lamium purpureum L..	S	11	1	9,09 %
Leonurus sp.	G	1	0	0
Marrubium peregrinum L. . . .	G	3	1	33,33 %
Marrubium vulgare L.	S	5	1	20%
Nepeta sp.	S	2	0	0
Salvia officinalis L..	C	2	0	0

(1) Le abbreviazioni usate in questa colonna significano: C = coltivata, G = allevata nel Giardino botanico di Cambridge, S = spontanea.

Su un totale di 12 specie le cui piante presentavano tutte sintomi talora lievissimi, ma che sempre ricordavano quelli tipici del VMLL, solamente 4 risultarono infette.

L'individuazione del quadro sintomatologico della malattia nei suoi ospiti naturali fu, come già ho accennato, resa assai difficile dalla frequente interferenza di sintomi virus-simili. Per questo virus, ancor più che per altri, fu quindi indispensabile la riproduzione artificiale della malattia in piante sicuramente sane onde

avere il quadro esatto dei sintomi e distinguere le alterazioni prodotte dal VMLL da quelle dovute ad altre cause. Per questo motivo faccio un'unica descrizione sintomatologica di tutti gli ospiti del virus nella seconda parte di questo lavoro.

Distribuzione geografica

Trovai le piante affette dal VMLL nella zona di Cambridge. Non ispezionai però nessun'altra regione inglese.

Le diverse ricerche e prove di isolamento compiute in varie regioni d'Italia mentre mi permisero di constatare la presenza di un altro interessante virus in *Ballota nigra*, mi diedero risultati negativi per quanto riguarda il VMLL. È quindi possibile che questo virus non sia presente nel nostro Paese e poichè non sono neppure riuscito ad osservare infestazioni dell'afide *Cryptomyzus alboapicalis* (Theob.) è probabile che il virus manchi in Italia o se presente sia poco diffuso appunto per l'assenza del suo vettore.

Nella zona di Cambridge trovai piante infette per lo più in aree erbose lungo strade o sentieri sia nella città che nella campagna circostante. Uno degli isolamenti lo feci da *Marrubium peregrinum* allevato in una parcella del Giardino botanico. Questo reperto mi pare di un certo interesse poichè tale specie venne certamente importata da qualche altro Paese (1). Si potrebbe così pensare che il virus sia stato introdotto in Inghilterra proprio con queste piante, ma è anche probabile che il *Marrubium peregrinum* sia gradito all'afide *Cryptomyzus alboapicalis* e che questo gli abbia trasmesso il virus. Queste sono però pure ipotesi che non ho potuto ancora controllare.

---

(1) I Giardini botanici preziosi tra l'altro perchè allevano piante svariate provenienti da ogni località hanno però l'inconveniente di poter ospitare e diffondere numerose malattie e perciò dovrebbero essere costantemente ed attentamente vigilati. Sarebbero inoltre opportune per tutti quelle misure di quarantena che già da tempo vigono in alcuni dei più importanti.

Infatti in ogni Giardino botanico che ho avuto occasione di visitare ho sempre trovato un numero rilevante di piante con tipici sintomi di virosi e quasi tutte le volte che ho potuto controllare sperimentalmente tali infezioni ho isolato interessanti virus.

Una rassegna delle piante virosate del Giardino botanico centrale di Mosca è stata recentemente fatta da Protsenko (1957) che trovò fra le piante di serra e quelle all'aperto sintomi di virosi o di malattie virussimili in ben 73 generi appartenenti 22 famiglie.

Parte II

RICERCHE SPERIMENTALI

Piante ospiti

Per la determinazione del VMLL e per la preliminare ricerca della serie delle specie ospiti inoculai piante appartenenti ad 11 famiglie includendo naturalmente la maggior parte degli ospiti differenziali generalmente usati in virologia.



Fig. 2. — Sintomi sistemici in alcune Labiate infettate con inoculazione meccanica o mediante afidi :
A), D) ed E) *Lamium album* (afidi)
B) e G) *Lamium album* (inoculazione meccanica)
C) *Lamium purpureum* (afidi)
F) *Ballota nigra* (inoculazione meccanica)
Systemic symptoms on some « Labiatae » infected by sap-inoculation (B, G, *and* F) *or by insect transmission* (A, D, E, *and* C).

Su un totale di 27 specie inoculate 9 furono facilmente infettabili, 3 manifestarono infezione incerta e le rimanenti 15 risultarono immuni. Da molte di quest'ultime — e precisamente da

quelle che nell'elenco seguente sono segnate con asterisco — tentai il reisolamento del virus onde escludere eventuali infezioni mascherate (1).

Elenco delle specie immuni al VMLL

Bignoniaceae: Catalpa (*bignonioides* Walt. ?), giovani piantine di 6-7 mesi; *Chenopodiaceae: Beta vulgaris* L., *B. vulgaris* ssp. *rapa* Asch., *Chenopodium amaranticolor* Coste e Reyn.; *Cruciferae: Brassica chinensis* L.*; *Geraniaceae: Pelargonium zonale* L'Hérit.*; *Labiatae: Coleus Blumei* Benth.*; *Leguminosae: Phaseolus vulgaris* L.*, *Vicia Faba* L.*, *Vigna sinensis* Endl.*; *Rosaceae: Rubus fruticosus* L., *R. Idaeus* L.; *Solanaceae: Datura Stramonium* L.*, *Solanum capsicastrum* Lk.*; *Tropaeolaceae: Tropaeolum majus* L.*.

In base al fatto che un terzo delle specie saggiate siano risultate suscettibili al VMLL si potrebbe arguire che tale virus abbia un'ampia serie di ospiti.

Descrivo ora dettagliatamente i sintomi che il VMLL produsse nelle piante inoculate ed i risultati delle osservazioni fatte duranil decorso della malattia.

Aizoaceae

Tetragonia expansa Murr. — Il decorso della malattia nello spinacio della Nuova Zelanda fu assai diverso nelle inoculazioni effettuate durante il periodo giugno-settembre rispetto a quelle effettuate da ottobre a dicembre.

Il periodo d'incubazione fu per lo più di 5-13 giorni, ma, specialmente in estate, ebbi sintomi anche 30 giorni dopo l'inoculazione.

I sintomi autunnali consistettero in anelli concentrici con punto centrale (fig. 3, A), di color biancastro od avorio, di diametro variabile da 1 a 3 mm. Queste lesioni locali interessavano l'intero spessore della foglia e col tempo divennero sempre più necrotiche mantenendo purtuttavia colore chiaro. Nel frattempo si formarono attorno ad esse altri anelli concentrici, che raggiunsero in qualche

(1) Quest'esclusione è però relativa poichè potrebbe verificarsi il caso di infezioni mascherate in determinati ospiti dai quali non sia possibile il reisolamento del virus per la presenza di sostanze inibitrici, come appunto avvenne nel caso della *Tetragonia expansa*.

caso il numero di 6 con diametro complessivo superiore a 1 cm., talora sottili e regolari, talora un po' più spessi ed ondulati (figura 3, B) di colore biancastro o giallo-verde. Agli anelli necrotici si alternavano anelli verdi di tessuto normale, ma col tempo anche questi ultimi necrotizzarono sicchè ne risultarono grosse necrosi compatte.

I sintomi estivi furono meno virulenti : per lo più piccole aree od anelli clorotici accompagnati o no da sottili anellini biancastri lievemente necrotici. Anche in questa stagione le lesioni locali si ingrandirono, ma rimasero sempre prevalentemente clorotiche ; si formarono talora aloni giallo-verdi. In qualche caso osservai come primo sintomo uno o due anelli a largo diametro (5 mm. circa) lievemente ondulati delimitanti aree normali.

I sintomi descritti si formarono di preferenza sulle foglie medie : su quelle basali di piante adulte ben raramente osservai lesioni necrotiche, ma aree od anelli di color giallo verde. Durante l'ingiallimento fisiologico di tali foglie restò attorno alle lesioni locali un alone verde.

Il VMLL non divenne mai palesemente sistemico in questo ospite, ma neppure ebbi infezione sistemica mascherata poichè dalle parti di foglia senza sintomi locali non mi fu possibile reisolare il virus ; inoltre piante già infette furono suscettibili di ulteriori reinfezioni e manifestarono lesioni locali nelle aree lasciate libere dalla precedente inoculazione.

Come già accennai, d'estate e sulle foglie più adulte il virus non produsse sintomi necrotici e quindi si conservò attivo più a lungo. In tali condizioni aree sviluppatesi a cavallo di nervature principali si allungarono talora un po' lungo esse, ma sempre assai limitatamente. In un solo caso osservai sulle foglie di un germoglio linee di tipo « oak leaf patterns » prodottesi forse per la confluenza di più lesioni locali su nervature molto ravvicinate.

Il succo estratto dalle foglie infette di *T. expansa* mentre risultò trasmissibile ad altre piante di questa specie non lo fu se inoculato negli altri ospiti del virus. Ebbi infezione solamente in una pianta di *Nicotiana glutinosa* inoculata con succo estratto dalle sole lesioni locali ritagliate in modo che non rimanesse alcuna area verde. È quindi evidente la presenza di uno o più inibitori nel succo di quest'ospite. Prove preliminari dimostrarono che tale probabile inibitore diminuisce d'azione se diluito (v. Tabella II).

Nessun effetto avrebbe invece sull'inibitore il riscaldamento del succo fino a 50^0 e l'invecchiamento fino a 5 giorni



Fig. 3. — Lesioni locali necrotiche su *Tetragonia expansa* (sintomi autunnali) :
A) 10 giorni dopo l'inoculazione
B) 32 giorni dopo l'inoculazione

Local necrotic lesions on New Zealand Spinach, 10 days (A) *and* 32 *days* (B) *after inoculation (under autumn conditions).*

TABELLA II

EFFETTO DELLA DILUIZIONE SULL'AZIONE DELL'INIBITORE CONTENUTO IN *Tetragonia expansa*

	Tetragonia expansa	*Nicotiana tabacum* « W. Burley »	*Nicotiana glutinosa*
Succo non diluito	3/3 (1)	0/4	0/4
Succo alla 10^{-1}	3/3	0/4	0/4
Succo alla 10^{-2}	2/3	1/4	0/3

(1) Denominatore = n.ro delle piante inoculate. Numeratore = n.ro delle piante infettate.

Cucurbitaceae

Cucumis sativus L. — Su 17 piantine di cetriolo inoculate solamente 2 manifestarono sulle foglie più giovani e su quelle cotiledonali piccole lesioni locali biancastre tondeggianti od anulari. Da queste piante però non riuscii a reisolare il virus ragion per cui il cetriolo rimane ospite dubbio.

Labiatae

Ballota nigra L. — Una delle 4 piante inoculate manifestò, 6 giorni dopo l'inoculazione, lieve mosaico sulla parte basale delle giovani foglie cui fece seguito un quadro sintomatologico consistente principalmente nello schiarimento di segmenti di nervature (fig. 2, F). Da tali foglie non riuscii a reisolare il virus. In considerazione dello scarso numero di piante inoculate e del mancato reisolamento è indispensabile una conferma prima di poter considerare questa specie come ospite del VMLL. Si tenga però presente che secondo le recenti prove della HEIN (1957 a) la *Ballota nigra* (1) conterrebbe sostanze inibitrici nei riguardi del virus del mosaico del tabacco.

(1) Nel lavoro di questa Autrice si parla invero di *Lamium purpureum*, ma nell'estratto che Ella molto gentilmente mi inviò aggiunse d'essersi sbagliata nella determinazione e che si trattava di *Ballota nigra* L.

Anche una prova di trasmissione con l'afide *Cryptomyzus alboapicalis* fatta con tempi che diedero risultati positivi in *Lamium album* e in *Nicotiana glutinosa* fu negativa.

Lamium album L. — Mai questa specie manifestò sintomi locali sia in seguito all'inoculazione di succo infetto che all'iniezione del virus da parte di afidi. Di solito 9-20 giorni dopo l'inoculazione — ma anche, specialmente in estate, fino a più di 40 — comparve sulle foglie più giovani lieve mosaico costituito di irregolari aree clorotiche, nelle varie sfumature da verde pallido a giallo-verde, in campo verde normale (fig. 2, E e G), solo raramente il mosaico fu contrastato e vivace. Talora come primo sintomo ebbi schiarimento delle nervature. Il 20% circa delle piante inoculate subì infezione mascherata.

Dai centri di infezione il virus si diffuse in tutta la pianta sia nelle sue parti epigee che in quelle ipogee. Infatti quando qualche mese dopo l'infezione tagliai raso terra tutti i cauli i nuovi germogli che crebbero risultarono infetti.

La malattia in natura si presentava con sintomi uguali a quelli descritti ma sempre molto più lievi (fig. 1). Inoltre si accompagnavano per lo più ai tipici sintomi del VMLL alterazioni dovute a cause di natura non infettiva come ad es. nella fig. 1 aree puntiformi biancastre prodotte da punture di acari.

Non osservai importanti differenze fra le piante infettate con inoculazione di succo (fig. 2, B e G) rispetto a quelle infettate mediante afidi (fig. 2, A, D e E).

Seguendo per un po' di tempo lo sviluppo di una determinata pianta infetta notai spesso modificazioni nel quadro sintomatologico della malattia, ma sempre piuttosto lievi : talora oltre a mosaico e schiarimento delle nervature, accompagnati o no da clorosi di una striscia di tessuto attorno ad esse, osservai asimmetria fogliare, lieve deformazione ed irregolarità del margine (fig. 2, A, B e D), in qualche caso ebbi anche bollosità dovuta al differente accrescimento delle aree clorotiche rispetto a quelle normali.

In più casi 50-70 giorni dopo l'inoculazione osservai indebolimento dei sintomi ed anche la loro completa scomparsa. Si trattava però di guarigione apparente poichè queste piante contenevano sempre il virus talora in quantità assai grande. In qualche caso a periodi di completo mascheramento seguirono periodi in cui i sintomi ritornarono ad essere ben evidenti con il risultato che tali piante non avevano sintomi sulle parti più adulte mentre presen-

tavano evidente mosaico sui giovani germogli. In questi ultimi la concentrazione del virus era però di poco superiore che nelle foglie apparentemente sane come potei accertare inoculando il succo di queste parti separatamente sulla metà destra e su quella sinistra di foglie di tabacco e contando poi il numero delle lesioni locali prodottesi.

Lamium purpureum L. — Questa specie reagì al VMLL pressapoco come il *L. album*. Sia quando l'infezione avvenne per inoculazione meccanica che per azione di afidi osservai, una quindicina di giorni dopo, lieve mosaico accompagnato o no da schiarimento delle nervature sulle foglie più giovani (fig. 2, C).

Anche in quest'ospite il quadro dei sintomi fu assai vario andando dall'infezione mascherata al mosaico ben evidente insieme, talora, a deformazione fogliare e lieve bollosità.

Marrubium peregrinum L. — Il cespo da cui isolai il VMLL era allevato nell'aiuola destinata alle Labiate del Giardino botanico di Cambridge. Le foglie manifestavano mosaico costituito di aree irregolari di colore verde pallido in campo verde normale. In corrispondenza delle aree chiare la lamina fogliare era assai sottile : fra queste, talora limitate a pochi strati di cellule, e quelle normali c'erano numerosi termini di passaggio.

Un mese e mezzo dopo l'osservazione dei sintomi descritti, e cioè verso la fine di luglio, questi erano assai più lievi.

Marrubium vulgare L. — Una sola volta riuscii ad isolare il VMLL da questa specie. La pianta infetta presentava sulle foglie più giovani mosaico a grandi aree verde chiaro. Qualche foglia manifestava pure lieve deformazione, ma tale sintomo era anche presente su piante da cui non mi fu possibile isolare il virus ragion per cui penso che fosse dovuto ad altre cause.

Solanaceae

Nicotiana glutinosa L. — Il decorso della malattia fu in quest'ospite un po' diverso a seconda che l'infezione fosse la conseguenza dell'inoculazione di succo oppure dell'iniezione del virus da parte di afidi.

Nel primo caso comparvero da 3 a 17 giorni dopo l'inoculazione, ma più frequentemente da 5 a 9, sintomi primari per lo più sulle foglie più adulte, di forma e dimensione assai variabili ; le lesioni locali più frequenti furono necrosi tondeggianti d'aspetto



Fig. 4. — Sintomi sistemici in *Nicotiana glutinosa :*
A) 46 giorni dopo l'inoculazione (fase necrotica)
B) 71 giorni dopo l'inoculazione (microfillia)
Systemic symptoms on « N. glutinosa » 46 *days* (A) *and* 71 *days* (B) *after inoculation.*

inizialmente pellucido. Pure assai frequenti, specialmente sulle foglie un po' più giovani, anelli necrotici più o meno sottili con o senza punto necrotico centrale, mai però così netti come quelli che si formarono in tabacco. Le lesioni locali della *N. glutinosa* furono in complesso anche più piccole (variabili attorno ad 1 mm.), più scure (color nocciuola) e meno numerose di quelle del tabacco. Di solito qualche giorno dopo la loro comparsa si formò attorno ad esse un sottile anello necrotico concentrico.

Mentre nell'unico caso di trasmissione positiva avuta con l'afide *Myzus persicae* (v. pag. 117) osservai come prima manifestazione della malattia sintomi sistemici, nei numerosi casi positivi ottenuti con l'afide *Cryptomyzus alboapicalis* osservai per lo più 9, ma anche fino a 14 giorni dopo la deposizione degli afidi su *N. glutinosa*, lesioni locali necrotiche, tondeggianti a superficie zonata (fig. 6, C) costituita cioè dall'alternarsi di anelli color nocciuola



Fig. 5. — Sintomi sistemici in *Nicotiana glutinosa* (fase non necrotica), 73 giorni dopo l'inoculazione.
Systemic symptoms on « N. glutinosa », 73 days after inoculation.

chiaro con altri di color nocciuola-grigio. Questi sintomi primari che si manifestarono in seguito alla trasmissione mediante afidi furono sempre ben distinguibili da quelli che si formarono come conseguenza della trasmissione meccanica poichè meno necrotici, di forma rotonda e mai ad anello e di colori più smorti. Tale fatto,

che venne segnalato anche per altri virus (v. pag. 121), fu probabilmente in relazione alla diversa quantità di virus inoculata e quindi alla conseguente diversa velocità di espansione del virus nei tessuti dell'ospite. Può però aver influito anche la diversa profondità raggiunta dal virus nei due tipi di trasmissione.

In alcuni casi l'infezione primaria fu così virulenta che determinò la morte delle foglie colpite impedendo la formazione dei sintomi secondari. Anche in piante adulte con più di 12 foglie non osservai seguito sistemico ma in questi casi la causa fu certamente in relazione ai tessuti troppo vecchi e quindi meno adatti alla migrazione del virus.

Nella maggioranza dei casi invece alle lesioni locali seguì, da 13 a 24 giorni dopo l'inoculazione (con periodi estremi di 11 e 40 giorni), infezione sistemica e ciò anche quando i sintomi primari erano costituiti da pochissime lesioni locali.

L'infezione secondaria incominciò di solito con clorosi o necrosi delle nervature specialmente di quelle principali (fig. 4, A), ma anche delle secondarie (fig. 6, B), cui fece seguito sulle foglie più giovani mosaico, clorosi, necrosi di piccole aree per lo più in prossimità delle nervature, deformazione e lieve bollosità (fig. 4, A). Queste alterazioni furono talora così virulente da causare la morte della parte più giovane e persino dell'intera pianta. Di solito però dopo questa prima fase acuta avvenne una ripresa della pianta, che in qualche caso portò alla completa guarigione. ma che più frequentemente dette luogo a sintomi più blandi poco o punto necrotici e caratterizzati da deformazioni, ispessimento e bollosità delle foglie (fig. 5) con talora un po' di mosaico ; sovente osservai anche riduzione della lamina fogliare così pronunciata da poter essere considerata vera e propria microfillia (fig. 4, B). A questa fase corrispose sempre una notevole diminuzione della concentrazione del virus nei tessuti tant'è che spesso non mi riuscì di reisolarlo.

Contrariamente a quanto osservai per il tabacco (cultivar « White Burley ») le piante di *N. glutinosa* più suscettibili all'infezione furono quelle più giovani che avevano generalmente meno di otto foglie. In esse la percentuale di infezione fu più alta ed i sintomi si manifestarono prima che sulle piante più adulte.

Nicotiana rustica L. — Quest'ospite reagì da 6 a 12 giorni dopo l'inoculazione o con lesioni locali necrotiche tondeggianti, di diametro variabile attorno ad 1 mm., oppure con sottili anelli

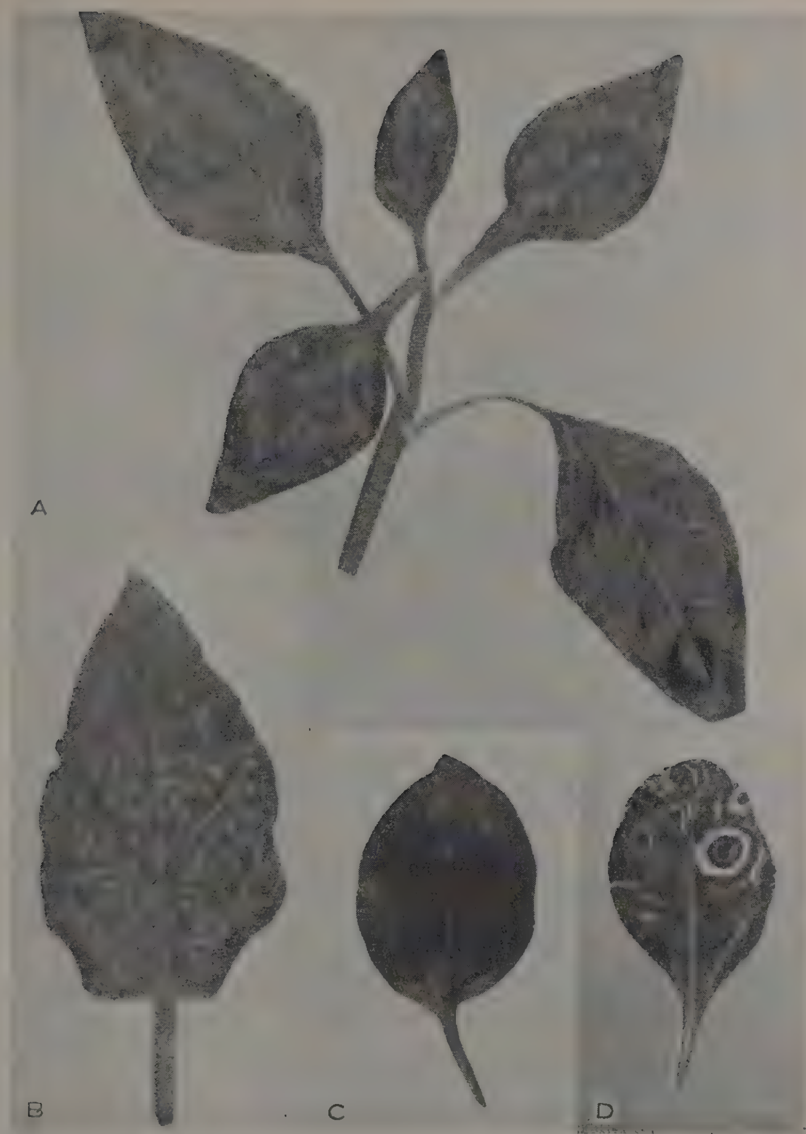


Fig. 6. — A) Sintomi sistemici in *Petunia hybrida*, 27 giorni dopo l'inoculazione. - *Systemic symptoms on «P. hybrida»; 27 days after inoculation.*

B) Inizio dell'infezione sistemica in *Nicotiana glutinosa*, 28 giorni dopo l'inoculazione. - *First symptoms of systemic infection of «N. glutinosa», 28 days after inoculation.*

C) Lesioni locali su *N. glutinosa* formatesi in seguito all'iniezione del VMLL da parte dell'afide *Cryptomyzus alboapicalis*. - *Local lesions on « N. glutinosa » produced by the feeding of infective « C. alboapicalis ».*

D) Maculatura anulare su tabacco cultivar Kawala, 50 giorni dopo l'inoculazione. - *Ringspot on tobacco, Kawala, 50 days after inoculation.*

di dimensione assai maggiori (2-4 mm.) dapprima clorotici, poi necrotici. Successivamente attorno a queste prime lesioni si formarono anelli necrotici concentrici per lo più non continui, ma interrotti od addirittura limitati a brevi archi. Col tempo queste necrosi anulari si saldarono fra di loro cosicchè le piccole lesioni locali si trasformarono in larghe aree necrotiche.

Le foglie più adulte furono meno suscettibili al virus ; su di esse si formarono talora aree tondeggianti mai necrotiche, ma di colore giallo-verde, con margine che rimase verde anche quando le foglie ingiallirono naturalmente.

In qualche caso aree formatesi sulle nervature si allungarono lungo queste ; in nessun caso ebbi però vera malattia sistemica, per quanto ulteriori osservazioni in tal senso siano necessarie.

Nel complesso la *N. rustica* si dimostrò assai meno suscettibile al VMLL del tabacco, ma più suscettibile della *N. glutinosa* (v. anche tabella III).

Nicotiana tabacum L. — Effettuai la maggioranza delle osservazioni ed esperienze sulla cultivar « White Burley » mentre inoculai un numero limitato di piante appartenenti ad altre due cultivar pure frequentemente usate come ospiti differenziali.

Il quadro sintomatologico fu nel complesso abbastanza uniforme con malattia solo primaria che non divenne mai veramente sistemica durante tutto il periodo di osservazione che in parecchi casi superò i 2 mesi e mezzo ; tuttavia osservai in ogni cultivar particolarità abbastanza caratteristiche.

Cultivar « Kawala ». — Da 6 a 12 giorni dopo l'inoculazione comparvero sulle foglie lesioni clorotiche o necrotiche consistenti sia in piccole aree rotonde che in sottili anelli. Attorno a queste prime lesioni si formarono altri anelli necrotici per lo più sottili e talora interrotti, ma qualche volta anche abbastanza larghi, di colore avorio. Gli anelli più larghi avevano colore più chiaro ed interessavano tutti i tessuti della foglia. Quelli più sottili erano di colore lievemente più scuro per lo più limitati ai tessuti più superficiali. Assai sovente il secondo anello concentrico non era completo ed aveva forma irregolare, spesso a fuso, allungata nel senso delle nervature principali. Sulle foglie più adulte questo fenomeno era assai più accentuato cosicchè osservai talora, oltre a regolari anelli, linee necrotiche disposte in modo da ricordare la tipica sintomatologia dell'« oak leaf patterns » (figura 6, D).

Cultivar «S a m s u n». — I primi sintomi apparvero sulle foglie mediane da 6 a 9 giorni dopo l'inoculazione sotto forma di piccole lesioni tondeggianti o di sottili anelli del diametro di 1-2 mm., di aspetto pellucido. In seguito si formarono attorno a queste prime lesioni anelli concentrici biancastri talora sottili talora piuttosto larghi. In alcuni casi i vari anelli necrotici si fusero formando un'unica lesione necrotica rotonda ; in altri invece restarono ben differenziati (fig. 7, B). Sulle foglie più adulte le lesioni erano meno necrotiche e per lo più ad anello : esse si formarono inoltre qualche giorno dopo quelle delle foglie medie.

Mai la malattia divenne sistemica : solamente alcuni anelli, specialmente quelli più periferici, meno necrotici e molto sottili, si allungarono nel senso delle nervature (fig. 7, B). Gli anelli periferici presentavano inoltre assai frequentemente soluzioni di continuità.

Cultivar « W h i t e B u r l e y ». — Nella maggioranza dei casi i primi sintomi comparvero da 5 a 13 giorni dopo l'inoculazione. Il periodo d'incubazione variò tuttavia da 2 a 17 giorni a seconda dell'età delle piante, delle condizioni climatiche e probabilmente di quelle edafiche.

Le lesioni locali comparvero di preferenza, e più rapidamente sulle foglie medie e medio-giovani. Per lo più erano costituite da necrosi tondeggianti di diametro variabile attorno ai 2 mm., dapprima pellucide e talora quasi diafane, poi necrotiche di colore variabile dal bianco sabbia al nocciuola chiaro. Qualche volta al centro di queste necrosi restò una piccola area verde (fig. 8, A).

Assai frequentemente, specie nelle foglie più adulte, i sintomi locali furono invece anelli più o meno larghi con o senza punto centrale e circa dello stesso colore e consistenza delle lesioni rotonde. Per lo più questi anelli erano stati però preceduti da aree clorotiche rotonde od anulari. Fra le lesioni clorotiche e quelle necrotiche osservai numerosi termini di passaggio e sovente anellini biancastri (fig. 7, A).

Da questi diversi tipi di lesioni locali — che coesistettero talora sulla stessa pianta — reisolai sempre il VMLL. Non mi fu però possibile individuare chiaramente quali fossero stati i fattori che determinarono tali differenze sintomatologiche : osservai solo una maggior frequenza delle necrosi ad anello da agosto a novembre ; inoltre queste si formarono di preferenza sulle foglie più adulte e le necrosi rotonde sulle foglie più giovani.



Fig. 7. — Lesioni locali su tabacco:
A) Cultivar « White Burley », 18 giorni dopo l'inoculazione.
B) Cultivar « Samsun », 39 giorni dopo l'inoculazione.
Local lesions on tobacco, White Burley, 18 days after inoculation (A), *and on tobacco, Samsun, 39 days after inoculation* (B).

Generalmente la malattia non restò localizzata alle sole lesioni iniziali e dopo alcuni giorni osservai attorno ad esse la comparsa di anelli concentrici più o meno necrotici. Nel caso di aree necrotiche compatte gli anelli furono meno necrotici delle lesioni iniziali ed un po' evanescenti (fig. 8, A). Quando invece la lesione locale era clorotica o solo lievemente necrotica l'anello fu ben pronunciato, regolare e continuo e per lo più attorno ad esso si formò un secondo anello concentrico anch'esso necrotico, ma più sottile, irregolare e talora discontinuo (fig. 7, A).

Quando le lesioni locali iniziali erano poche e distanziate fra loro l'anello si formò regolarmente attorno a tutta l'area necrotica (fig. 8, A) ; quando invece le lesioni erano numerose e vicine l'una all'altra l'anello si formò distintamente solo in quei settori periferici non comuni ad altri anelli, settori che si saldarono insieme in una linea curva racchiudente più lesioni locali (fig. 7, A). Su qualche foglia con lesioni locali ravvicinate ed uniformemente distribuite nella parte mediana della foglia si formò un'unica linea necrotica festonata.

Dalle lesioni nettamente necrotiche mi è stato possibile reisolare il virus 35 giorni dopo la loro comparsa, ma non, in alcune prove, dopo 45 giorni : in questi ultimi casi però le foglie interessate incominciavano ad appassire.

Anche in quest'ospite alcuni anelli necrotici formatisi a cavallo di nervature principali si allungarono lungo esse ; il fatto fu assai più accentuato quando il centro d'infezione era proprio sulla nervatura. Questa tendenza del virus a diffondersi un po' nei tessuti di quest'ospite fu assai più manifesta in alcune prove compiute durante il mese di novembre, tant'è che i sintomi che ne risultarono furono più di tipo « *necrotic oak leaf patterns* » (figg. 8, B e 9) che di tipo maculatura anulare. Infatti mentre sulle foglie mediane e su quelle adulte ebbi anelli necrotici con o senza punto centrale, sulle foglie più giovani osservai dapprima gruppi di aree clorotiche o lievemente necrotiche, poi attorno ad essi una lunga linea che assunse press'a poco la forma pennatolobata caratteristica delle foglie di quercia. Attorno a questa prima linea necrotica di solito ben evidente, di color giallo-bruno, se ne formò poi una seconda un po' più sottile e meno uniforme che seguì esattamente il decorso della prima (fig. 9).

Ma nonostante queste alterazioni meno localizzate di quelle che più frequentemente si formarono in quest'ospite, non osservai

mai malattia veramente sistemica e dalle foglie senza sintomi di piante inoculate non reisolai mai il virus ; inoltre tali foglie furono sensibili ad altre inoculazioni.



Fig. 8. — A) Lesioni locali su tabacco, cultivar « White Burley », 11 giorni dopo l'inoculazione.
Local lesions on tobacco, White Burley, 11 days after inoculation.
B) Sintomi di tipo « necrotic oak leaf patterns » su tabacco « White Burley », 42 giorni dopo l'inoculazione.
Necrotic oak leaf patterns on tobacco, White Burley, 42 days after inoculation.

A differenza della *Nicotiana glutinosa* le piante di « White Burley » più suscettibili furono quelle adulte con almeno 7 foglie che reagirono al VMLL più rapidamente e con un maggior numero di lesioni locali di quelle più giovani.

Petunia hybrida Hort. — Le poche piante inoculate furono altamente suscettibili al VMLL e manifestarono circa 9 giorni dopo l'inoculazione sintomi primari sulle foglie mediane consistenti in sottili anelli lievemente necrotici di color bianco sabbia con o

senza punto centrale. Attorno a questi se ne formarono poi altri concentrici sempre molto tenui, talora discontinui.

Una ventina di giorni dopo l'inoculazione comparvero i primi sintomi secondari e cioè piccole aree clorotiche, schiarimento delle nervature e lieve bollosità delle foglie più giovani. Poi questi sintomi si accentuarono e si produssero anche numerosi punti necrotici (fig. 6, A) e piccoli anellini. Il decorso sistemico della malattia fu assai virulento e portò alla morte dei germogli apicali.



Fig. 9. — Particolare ingrandito della figura 8, B.
Similar to Fig. 8, B but enlarged.

Solanum Lycopersicum L. — Su 16 piante inoculate solamente 4 manifestarono da 11 a 18 giorni dopo piccole aree tondeggianti clorotiche o biancastre che rimasero statiche. Da queste lesioni non mi fu però possibile reisolare il virus per cui saranno necessarie altre prove prima di poter considerare il pomodoro ospite del VMLL.

Metodi di trasmissione

Trasmissione meccanica. Il VMLL fu nel complesso facilmente trasmissibile mediante l'inoculazione di succo ricavato da piante infette. Le specie più suscettibili a questo tipo di trasmissione furono spinacio della Nuova Zelanda, petunia e le tre cul-

tivar di tabacco saggiate come è visibile nella tabella III che dà appunto il grado di suscettibilità della maggior parte degli ospiti del virus.

La più bassa percentuale d'infezione l'ottenni inoculando il *Lamium album*; è probabile che questa specie, come d'altronde le altre Labiate affini saggiate, sia poco suscettibile alla trasmissione meccanica a causa della scarsa bagnabilità della superficie fogliare. Il *L. album* risultò infatti molto recettivo all'infezione mediante afidi che sono probabilmente gli unici vettori del virus in natura.

Il reisolamento del virus fu possibile da tutti i vari ospiti ad eccezione del cetriolo, del pomodoro e della *Ballota nigra* che in conseguenza restano ospiti dubbi. Bisogna però tener presente che nella *B. nigra* vi sono probabilmente sostanze inibitrici, come dimostrò la Hein (1957 a) mescolando succo di questa specie (v. nota 1 a pag. 103) con il virus del mosaico del tabacco.

Tabella III

Grado di suscettibilità all'inoculazione meccanica degli ospiti del VMLL

Specie ospite	Numero delle piante		Percentuale di infezione
	inoculate	infettate	
Lamium album	15	5	33,33 %
L. purpureum	5	2	40 %
Nicotiana glutinosa	102	52	50,98 %
N. rustica	7	4	57,14 %
N. tabacum cv. « Kawala »	6	6	100 %
N. tabacum cv. « Samsun ».	4	3	75 %
N. tabacum cv. « White Burley ». .	205	146	71,22 %
Petunia hybrida	4	3	75 %
Tetragonia expansa	31	28	92,93 %

Dalla *Tetragonia expansa* il reisolamento del virus mentre fu possibile inoculando piante della stessa specie non lo fu quando il succo infetto di spinacio della Nuova Zelanda venne inoculato in piante di altre specie. Solamente con particolari accorgimenti

(v. pag. 101) riuscii ad infettare una pianta di tabacco «White Burley» ed una di *Nicotiana glutinosa* dimostrando quindi la presenza di inibitori.

Trasmissione a mezzo di insetti. Per le indagini sugli insetti vettori del VMLL e delle loro modalità di trasmissione dapprima controllai se l'afide *Myzus persicae* (Sulz.) — insetto che trasmette il maggior numero di virus trasmissibili per succo e che è quindi il più usato nelle prove preliminari — fosse vettore del virus; poi cercai sui *Lamium* infetti l'insetto o gli insetti che fossero i più probabili vettori della malattia in natura, li allevai ed impostai con essi prove di trasmissione artificiale.

Con l'afide *Myzus persicae* eseguii complessivamente 62 prove in 36 delle quali feci digiunare gli insetti per periodi variabili da 1^h a $4^h45'$ dopo di che li feci alimentare su piante infette (principalmente *Lamium album* e *Nicotiana glutinosa*, ed in pochi casi anche *Petunia hybrida*, *Tetragonia expansa* e *Nicotiana tabacum* cultivar « White Burley » e « Samsun ») per tempi che andavano da un minimo di 3 minuti ad un massimo di $2^h45'$ (con due punte a 6 e ad 8 ore). Tutte queste 36 prove di trasmissione mi diedero risultati negativi. Nelle altre 26 prove feci alimentare direttamente, cioè senza previo digiuno, gli afidi sulle piante infette (principalmente *Lamium album* e *Nicotiana glutinosa* ed in pochi casi anche *Nicotiana tabacum* cultivar « W. Burley ») per periodi variabili da $11^h30'$ a 66^h. Solamente una di queste 26 prove di trasmissione fu positiva. Si infettò infatti una pianta di *N. glutinosa* sulla quale avevo deposto 15 afidi fatti alimentare per $12^h10'$ su una *N. glutinosa* con malattia sistemica. I primi sintomi comparvero 19 giorni dopo la deposizione degli afidi; dall'infezione che seguì riuscii a reisolare il virus. Un solo caso positivo su 62, oltre a rappresentare una percentuale bassissima (1,61 %), necessita logicamente di una conferma prima di poter dire che l'afide *M. persicae* sia vettore del VMLL, ciò anche in considerazione del fatto che l'esito positivo fu ottenuto con l'« alimentazione lunga » e quindi un po' in contrasto con i risultati più significativi di trasmissione mediante *Cryptomyzus alboapicalis*.

In una seconda serie di prove compiute allo scopo di accertare un eventuale vettore della malattia in natura ispezionai i vari gruppi di *Lamium* e di *Marrubium* dai quali mi era stato possibile isolare il virus e raccolsi gli insetti presenti su di essi: si trattò di afidi, cicadellidi e coleotteri. Naturalmente presi in maggiore

considerazione i primi poichè il virus che stavo studiando, essendo facilmente trasmissibile per succo, apparteneva a quel vasto gruppo che ha come vettori più frequenti appunto gli afidi. Ed infatti mentre prove preliminari di trasmissione effettuate con cicadellidi ebbero esito negativo alcune di quelle compiute con afidi diedero risultati positivi.

Il dr. STROYAN molto gentilmente mi determinò questi afidi vettori come *Cryptomyzus alboapicalis* (Theob.) e mi comunicò interessanti notizie sulla loro biologia (1).

Effettuai le varie prove di trasmissione mediante il *C. alboapicalis* con afidi raccolti in natura su *Lamium album* ed allevati in laboratorio su piante di *L. album* sane. Foglie di queste piante vennero di tanto in tanto saggiate per controllare se avessero contratto qualche virosi. Ed infatti una di queste piante circa un mese dopo la deposizione di una trentina di afidi, pur non manifestando alcun

---

(1) Ritenendo che la conoscenza della biologia di quest'afide, ed in particolare delle sue piante ospiti, possa essere di grande utilità per ulteriori indagini sul VMLL riporto alcune notizie ricavate principalmente dalle gentili comunicazioni personali del Dr. Stroyan, da un Suo lavoro (1952) e dall'esauriente monografia di HILLE RIS LAMBERS (1953).

Gli ospiti normali del *C. alboapicalis* sono il *Lamium album*, il *L. maculatum* e la *Ballota nigra*. Secondo HILLE RIS LAMBERS (l.c.) sul *L. purpureum* — considerato ospite da Boerner — l'afide non forma colonie: in un sol caso in cui *L. album* e *L. purpureum* crescevano assai vicini egli ne trovò pochi esemplari su questa specie. Nelle mie prove di trasmissione del VMLL il *C. alboapicalis* si alimentò e visse per uno o due giorni (dopo di che venne ucciso) oltre che su *L. purpureum* anche su *Nicotiana glutinosa*; gli allevamenti li feci però solamente su *L. album* e quindi solo su questa specie ebbi colonie. Altro ospite insolito è *Malva* su cui THEOBALD (1916) trovò quest'afide che descrisse, per primo, con il nome di *Siphocoryne alboapicalis*. Secondo il Dr. STROYAN (*in litt.*) questo reperto non è del tutto casuale dacchè Egli stesso ha « ... since seen another capture on the same host » per cui ritiene che ci debbano essere delle ragioni d'ordine biochimico per queste visite su di un ospite che è certamente fuori dalla normale serie degli ospiti del genere *Cryptomyzus*. Questi fatti anche quando sono vere e proprie eccezioni od anormalità possono avere molta importanza in virologia. Basta infatti una casuale visita ad una determinata pianta per portarvi un particolare virus e causare una nuova virosi. Il *C. alboapicalis* può in realtà trasmettere il VMLL alla *N. glutinosa* che non è uno dei normali ospiti dell'afide. Il fatto che questo virus sia stato trovato in natura anche in due specie di *Marrubium* fa poi supporre che queste piante possano essere visitate dall'afide, a meno che esista un altro vettore del VMLL.

In quanto alla biologia del *C. alboapicalis* HILLE RIS LAMBERS (l.c.) accertò che la specie è olociclica avendo trovato su *L. album* dapprima una fondatrice e poi anche le forme sessuali e le uova. Ci sono però anche forme anolocicliche e STROYAN (1952 ed *in litt.*) osservò l'afide svernare con forme vivipare.

Il *C. alboapicalis* è stato finora segnalato (v. HILLE RIS LAMBERS, l.c.) in Inghilterra, Olanda e Germania. Alcune mie ricerche in Italia sono state infruttuose ed il Prof. Minos Martelli mi ha molto gentilmente informato che esso non risulta fino ad oggi osservato nel nostro Paese.

sintomo, dimostrò di essere infetta. È quindi assai probabile che qualcuno degli afidi ospitasse il VMLL.

Con il *C. alboapicalis* effettuai complessivamente 42 prove in 28 delle quali sottoposi gli afidi ad un previo periodo di digiuno variabile da $1^h5'$ a $3^h15'$. Dopo il digiuno li feci alimentare sulle piante infette (*Lamium album* e *Nicotiana glutinosa*) per periodi variabili da 2 a 26 minuti (con quattro punte a $13^h45'$, $14^h30'$, $15^h30'$ e $15^h35'$). I casi positivi di trasmissione furono 16 e precisamente quelli elencati nella tabella IV.

TABELLA IV

CASI POSITIVI DI TRASMISSIONE DEL VMLL DA PARTE DELL'AFIDE *Cryptomyzus alboapicalis* IN CUI L'ALIMENTAZIONE SULLA PIANTA INFETTA FU PRECEDUTA DA UN PERIODO DI DIGIUNO.

Durata digiuno	Alimentazione su pianta infetta		Afidi trasferiti su pianta rivelatrice	
	Specie	Durata	Numero	Specie
$1^h5'$	*Lamium album* . . .	7'	10	*Lamium album*
«	*Lamium album* . . .	9'	10	*Lamium purpureum*
«	*Nicotiana glutinosa* .	15'	3	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	18'	3	*Lamium purpureum*
«	*Lamium album* . . .	22'	8	*Lamium purpureum*
3^h	*Nicotiana glutinosa* .	22'	10	*Nicotiana glutinosa*
$3^h5'$	*Lamium album* . . .	7'	10	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	11'	11	*Lamium album*
«	*Lamium album* . . .	20'	11	*Nicotiana glutinosa*
$3^h10'$	*Lamium album* . . .	3'	10	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	8'	12	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	13'	10	*Lamium album*
$3^h15'$	*Lamium album* . . .	5'	10	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	9'	10	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	19'	10	*Nicotiana glutinosa*
«	*Lamium album* . . .	22'	5	*Nicotiana glutinosa*

Nelle altre 14 prove feci alimentare gli afidi sulle piante virosate (*Lamium album* e *Nicotiana glutinosa*), senza sottoporli a digiuno, per periodi variabili da $1^h35'$ a $13^h10'$. I casi positivi

di trasmissione furono 4 e precisamente quelli elencati nella tabella V.

TABELLA V

CASI POSITIVI DI TRASMISSIONE DEL VMLL DA PARTE DELL'AFIDE *Cryptomyzus alboapicalis* IN CUI L'ALIMENTAZIONE SULLA PIANTA INFETTA NON FU PRECEDUTA DA UN PERIODO DI DIGIUNO.

Alimentazione su pianta infetta		Afidi trasferiti su pianta rivelatrice	
Specie	Durata	Numero	Specie
Lamium album . . .	$1^h\ 40'$	4	*Lamium purpureun*
Lamium album . . .	$9^h\ 30'$	9	*Lamium album*
Lamium album . . .	$9^h\ 30'$	8	*Nicotiana glutinosa*
Lamium album . . .	$13^h\ 10'$	32	*Lamium purpureum*

Dai risultati riportati si può constatare che la maggior percentuale di infezioni positive la ottenni quando il periodo di alimentazione sulla pianta infetta venne preceduto da un periodo di digiuno. In tali prove ebbi infatti il 57,14 % di trasmissioni positive contro il 28,57 % ottenuto nelle prove fatte senza previo digiuno.

Confrontando però il totale delle esperienze in cui la durata dell'alimentazione sulle piante infette fu inferiore a $2^h15'$ con quelle in cui fu superiore, senza tenere in considerazione il digiuno, si hanno i seguenti risultati : su 26 prove in cui il periodo di alimentazione non superò $2^h15'$ i casi positivi di trasmissione furono 17 e cioè il 65,38 % ; su 16 prove in cui i tempi di alimentazione superarono $4^h20'$ i casi positivi furono 3 e cioè il 18,75 %.

Anche confrontando il totale delle prove compiute (42) con quello delle prove riuscite (20) si ha un'alta percentuale di trasmissione (47,61 %).

Nel complesso quindi l'afide *C. alboapicalis* si dimostrò un ottimo vettore del VMLL ; il fatto che abbia ottenuto una discreta percentuale di trasmissione con tempi di alimentazione di $9^h30'$ e $13^h10'$ fa ritenere che il virus non sia rapidamente inattivato nello stomaco dell'insetto come avviene, per altri virus trasmissibili per succo, in altri afidi.

Il tempo minimo di alimentazione necessario agli afidi per diventare vettori del virus fu di tre minuti; quello che più frequentemente diede risultati positivi fu di 22 minuti.

Una caratteristica interessante dell'afide *C. alboapicalis* fu quella di produrre lesioni locali necrotiche in *Nicotiana glutinosa* (fig. 6, C) in seguito all'iniezione del VMLL (v. pag. 106). Questa particolarità è assai rara poichè nella grande maggioranza dei virus trasmessi da afidi si ha come prima manifestazione dell'avvenuta trasmissione la malattia sistemica. Fatti simili sono però stati segnalati da HOGGAN e JOHNSON (1935), da SMITH (1937 e 1957) e recentemente da HOLLINGS (1957) rispettivamente per il « turnip mosaic virus », il « cabbage black ringspot virus » e l'« anemone mosaic virus » virus che sembrano però assai affini tra loro. I primi due nelle prove di trasmissione con afidi produssero, secondo gli Autori citati, lesioni locali necrotiche molto simili nell'aspetto (anch'esse con evidente zonatura) e nelle dimensioni a quelle da me osservate nel caso del VMLL; in questi casi però le lesioni locali erano state prodotte dall'afide *Myzus persicae* su tabacco. Nel caso dell'« anemone mosaic virus » le piante che reagirono furono, secondo HOLLINGS (l.c.), tabacco e *Chenopodium amaranticolor* e le lesioni provocate dal *M. persicae* furono semi-necrotiche.

Questa peculiare reazione della *N. glutinosa* alla trasmissione con *C. alboapicalis*, che potrebbe anche essere dovuta al fatto che tali afidi inoculino la loro saliva infetta direttamente nelle cellule e non nei vasi floematici, dovrà essere tenuta in considerazione per eventuali studi quantitativi di trasmissione come appunto è stato fatto per il « cabbage black ringspot virus » (cfr. HAMLYN, 1953).

Non mi risulta che il *C. alboapicalis* sia mai stato segnalato quale vettore di virosi. L'elenco degli insetti vettori si arricchisce quindi di una nuova unità (1).

CARATTERISTICHE FISICHE

Punto d'inattivazione termica. Nelle varie prove effettuate il virus è sempre stato inattivato a 55° mentre succo scaldato per 10 minuti (v. pag. 93) a 50° è risultato ancora infettivo: ciò indipendentemente dalla provenienza del virus (*Tetragonia*

---

(1) Del genere *Cryptomyzus* si conosceva già il *C. ribis* (L.) vettore del « dahlia mosaic virus », dell'« onion yellow dwarf virus » e dal « turnip mosaic virus ».

expansa e *Lamium album*) e dalla pianta rivelatrice (*Nicotiana tabacum* e *T. expansa*). Ne consegue quindi che il punto d'inattivazione termica è compreso fra i 50° ed i 55° C.

Punto di diluizione limite. Questa caratteristica variò notevolmente a seconda dell'ospite da cui il virus proveniva.

Mentre succo di *Tetragonia expansa* e di *Nicotiana glutinosa* tollerò la diluizione di 10^{-2} ma non quella di 10^{-3}, succo proveniente da tabacco « White Burley » fu ancora lievemente infettivo alla diluizione di 10^{-3} ma non a quella di 10^{-4} ; succo di *Lamium album* sopportò bene la diluizione di 10^{-3} ma non quella di 10^{-4} ed infine succo di petunia fu ancora attivo alla diluizione di 10^{-4}. Tali dati sono illustrati graficamente nella figura 10 che riassume i risultati di alcune prove. L'asse delle Y rappresenta il numero medio delle lesioni locali per pianta (su 4 piante), quello delle X le diluizioni saggiate. Come ospite rivelatore usai il tabacco « White Burley » per tutti i casi eccetto che per quello della *Tetragonia expansa* in cui inoculai piante della stessa specie poichè il virus, come si è visto, non è trasmissibile dalla *T. expansa* al tabacco.

Longevità « in vitro ». Il virus contenuto nel succo estratto da *Nicotiana tabacum*, *Lamium album* e *Tetragonia expansa* e conservato a temperatura di laboratorio sopravvisse a 5 ½ — 6 giorni di invecchiamento ma non a 7.

Da foglie di *Lamium album* conservate in frigorifero a circa 0°C. estrassi dopo 8 giorni succo infettivo che si inattivò 2 giorni dopo.

Prove di protezione incrociata

Allo scopo di accertare se il VMLL possedesse una qualche affinità con altri virus che hanno in comune con esso alcune caratteristiche ho compiuto prove preliminari di protezione incrociata o premunità (v. pag. 94) con i seguenti virus della collezione del « Virus Research Unit » di Cambridge (gentilmente messi a mia disposizione) : « chrysanthemum (or tomato) aspermy virus », « cucumber mosaic virus », « nasturtium ringspot virus », « potato virus X », « tobacco ringspot virus » e « tomato aucuba mosaic virus ».

Tutti questi virus non dimostrarono di possedere alcuna azione protettiva nei riguardi del VMLL.

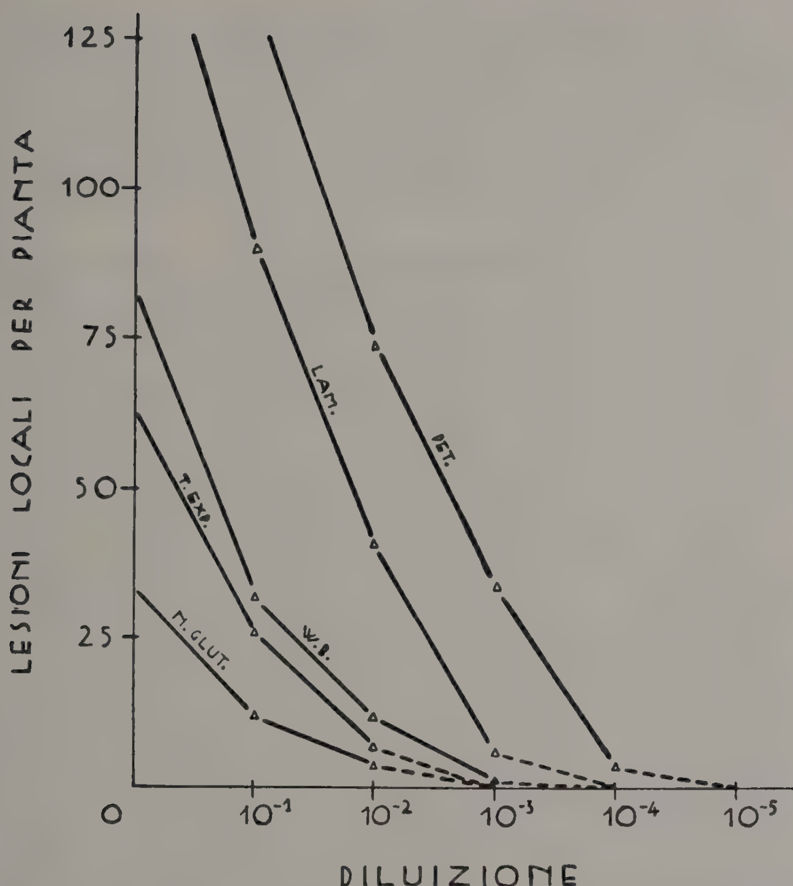


Fig. 10. — Influenza della pianta ospite sul punto di diluizione limite. Per ogni ospite tale punto è compreso nella parte tratteggiata della rispettiva curva. Le abbreviazioni significano: N. GLUT. = *Nicotiana glutinosa*, T. EXP. = *Tetragonia expansa*, W. B. = *N. tabacum* cv. « White Burley », LAM. = *Lamium album*, PET. = *Petunia hybrida*.
Effect of the host plant on the dilution end point.

Le prove compiute sono le seguenti:

« Chrysanthemum aspermy virus ». Le piante di *Nicotiana glutinosa* inoculate con un ceppo di questo virus manifestarono lieve mosaico, bollosità e distorsione. Sulle parti di foglia successivamente inoculate con il VMLL si produssero lesioni necrotiche locali, inoltre il VMLL divenne sistemico nonostante la presenza del primo virus.

Il succo delle foglie con infezione sistemica mista inoculato in tabacco produsse prima lesioni locali del VMLL, poi, una decina di giorni dopo, schiarimento delle nervature delle foglie più giovani cioè i sintomi caratteristici del « chrysanthemum aspermy virus ».

« Cucumber mosaic virus ». Piante di *Nicotiana glutinosa* con il tipico mosaico prodotto da questo virus reinoculate con il VMLL manifestarono anelli necrotici ed in seguito sintomi sistemici del VMLL.

Anche in questo caso riuscii a mettere in evidenza l'infezione complessa inoculando tabacco « White Burley » che produsse dapprima le lesioni locali necrotiche del VMLL poi i sintomi sistemici del virus del mosaico del cetriolo.

« Nasturtium ringspot virus ». Piante di tabacco « White Burley » con sintomi sistemici (sottili anelli clorotici e necrotici concentrici ed aree clorotiche) inoculate con il VMLL produssero numerose tipiche necrosi locali attorno alle quali si formò qualche giorno dopo l'anello necrotico concentrico.

Eseguii anche la prova inversa e cioè reinoculai il « nasturtium ringspot virus » su piante di *Nicotiana glutinosa* con malattia sistemica (in fase di guarigione) dovuta al VMLL. Circa 8 giorni dopo osservai la comparsa di numerosi anelli necrotici tipici del « nasturtium ringspot virus ».

« Potato virus X ». Questo virus inoculato in *Nicotiana glutinosa* causò mosaico e « vein-banding ». La successiva inoculazione con il VMLL produsse tipiche lesioni locali e successivamente i sintomi sistemici di quest'ultimo.

« Tobacco ringspot virus ». Inoculai dapprima con questo virus piante di tabacco « White Burley » e di *Nicotiana glutinosa* poi su piante in fase di guarigione reinoculai il VMLL che produsse i sintomi locali che gli sono caratteristici.

« Tomato aucuba mosaic virus ». Piante di *Nicotiana glutinosa* infette da VMLL con malattia sistemica in via di guarigione inoculate con questo ceppo del virus del mosaico del tabacco manifestarono numerose piccole lesioni locali necrotiche tipiche del virus.

Parte III

DETERMINAZIONE

Confronto con altri virus segnalati in « Lamium » ed in Labiate affini

Mi risulta che pochi sono i virus segnalati nelle Labiate affini a quelle ospiti del VMLL.

La Clinch (1942) scoprì che il ceppo « Up-to-Date streak virus » ed il virus X tipico infettano il *Lamium hybridum* in cui producono mosaico lieve. Successivamente (1944) trovò che un altro ceppo molto virulento, che chiamò « Severe X » produce in *Lamium hybridum* mosaico più manifesto accompagnato da lesioni color bruno chiaro o rosso-ruggine. Quanto sopra unitamente al fatto che alcuni ceppi del virus X della patata determinano in tabacco « White Burley » ed in *Nicotiana rustica* sintomi molto simili (v. ad es. Larson *et alii*, 1955) a quelli che io ebbi in questi ospiti inoculati con il VMLL mi hanno fatto prendere in considerazione questo virus. Ho dovuto però escludere ogni parentela fra i due prima di tutto perchè il « virus X della patata » non « premunizza » la *Nicotiana glutinosa* contro il VMLL poi per numerose importanti differenze le principali delle quali sono : il virus X della patata non è trasmissibile per afidi, infetta la *Datura Stramonium*, produce malattia sistemica in tabacco ed ha caratteristiche fisiche assai più alte.

Burnett (1934) inoculò con il « *Delphinium* stunt disease virus », oggi considerato un ceppo del virus del mosaico del cetriolo (cfr. R.A.M., 1957), il *Marrubium vulgare*. Su quattro piante inoculate se ne infettarono 2, che manifestarono come unico sintomo un nanismo generale, dalle quali gli fu possibile ricuperare il virus. Il virus del mosaico del cetriolo è però diverso dal VMLL principalmente perchè produce malattia sistemica in tabacco, cetriolo e pomodoro ed infetta la *Datura Stramonium*, la *Vigna sinensis* ed altre piante immuni al VMLL. Ho avuto inoltre occasione di trovare ambedue i virus nello stesso ospite (*Lamium album*) ed anche le prove d'inoculazione incrociata con i due virus non hanno dimostrato alcuna protezione.

Holmes (1946) trovò che il virus del mosaico del tabacco produce in *Lamium amplexicaule* infezione sistemica mascherata

ed in *Marrubium vulgare* infezione locale mascherata. Ma questo virus oltre a poter infettare piante ospitanti gia il VMLL è chiaramente assai diverso (v. tabella VI) da quest'ultimo.

Verplancke (1933) comunicò d'essere riuscito ad infettare con il virus del mosaico della barbabietola oltre ad altre tre Labiate anche il *Lamium maculatum* il quale manifestò mosaico costituito da macchie gialle irregolari da cui gli fu possibile reisolare il virus. Il VMLL è però interamente diverso da esso.

La Hein (1957 a) segnalò un mosaico giallo della *Ballota nigra* (v. nota 1 a pag. 103) il quale però fu trasmissibile allo stesso ospite solamente per innesto.

Un mosaico della *Ballota nigra* e di altre Labiate venne osservato in Georgia da Eristavi (v. Koehler e Klinkowski, 1954 pag. 558) ; ma questo Autore non comunicò altre notizie oltre a quelle sintomatologiche.

Infine il *Lamium purpureum* figura nell'elenco degli ospiti dell'« aster yellows virus » (Koehler e Klinkowski, 1954 pag. 685) ma questo virus non è, com'è noto, trasmissibile per succo.

Confronto con i virus di tipo maculatura anulare

Allo scopo di accertare se il VMLL fosse nuovo oppure affine ad altri virus già noti presi in considerazione tutti quelli che mi sembrava avessero in comune con questo qualche caratteristica. Siccome tali virus appartengono tutti alla grande famiglia dei « ringspot » cercai di radunarli e dividerli in gruppi omogenei seguendo il noto sistema di Johnson e Hoggan (1935).

Il prospetto che ne è derivato comprende solo i « ringspot » trasmissibili per succo (1), non include però quei virus che producono sintomi di maculatura anulare solo eccezionalmente (es. « alfalfa mosaic virus », « tobacco etch virus », ecc.). Date le sue finalità particolari comprende tuttavia anche virus che son ben lungi dall'appartenere al genere *Annulus* di Holmes (1948) essendo ceppi del virus del mosaico del tabacco e forse, come il « lily ringspot virus », del virus del mosaico del cetriolo.

(1) Quelli non trasmissibili per succo sono per lo più limitati ad ospiti arborei, arbustivi o suffruticosi (es. « lilac ringspot virus », « vaccinium ringspot virus », ecc.).

TABELLA VI

PROSPETTO ANALITICO DEI VIRUS DI TIPO MACULATURA ANULARE TRASMISSIBILI PER SUCCO.

I. TRASMESSI DA INSETTI VETTORI

A. TRASMESSI DA AFIDI

1. Tabacco suscettibile

Cabbage black ringspot virus (1)
Cabbage ring necrosis virus
« Lamium » mild mosaic virus (VMLL)
Lily ringspot virus
Nasturtium ringspot virus

2. Tabacco immune

Hemlock (poison) ringspot virus

B. TRASMESSI DA TRIPIDI

Tomato spotted wilt virus

II. NON TRASMESSI DA INSETTI VETTORI

A. TABACCO SUSCETTIBILE

1. Fagiolo immune

Currant (red) ringspot virus
« Delphinium » ringspot virus
Peony ringspot virus
« Pogostemon » virus 1
Potato virus X
Ranunculus mosaic virus
Tomato ringspot virus

2. Fagiolo suscettibile

« Arabis » mosaic virus
Aster ringspot virus
Beet ringspot virus (2)
Carnation ringspot virus
Lovage mosaic virus
Raspberry leaf curl virus (Scottish)
Tobacco (Bergerac) ringspot virus
Tobacco broad ringspot virus
Tobacco broken ringspot virus
Tobacco mosaic virus (alcuni ceppi)
Tobacco ringspot virus
Tobacco ringspot No. 2 virus
Tobacco streak virus
Tomato black-ring virus
Tulip white streak virus

B. TABACCO IMMUNE

Chrysanthemum ringspot virus
Hydrangea ringspot virus
Orchid (« Odontoglossum ») ringspot virus
Peach ringspot virus
Ruta ringspot virus

(1) Vedi nota (1) a pag. 93.
(2) Questo nuovo virus descritto da Harrison (1957) non figura ancora nè in Smith (1957) nè nella R.A.M. (1957).

Tutti i virus di tipo « ringspot » trasmissibili per succo oggi noti si possono dividere, come ho schematizzato nel prospetto analitico della tavola VI, in alcuni grandi gruppi che hanno in comune importanti caratteristiche biologiche. Vi sono infatti virus di tipo « ringspot » che si sa con certezza che sono trasmessi da insetti vettori mentre ve ne sono numerosi altri il cui vettore animale non è stato ancora trovato nonostante numerose ricerche per cui è presumibile che esso non esista od almeno non appartenga a quei gruppi d'insetti finora noti come comuni vettori di virus (2). Pur prendendo in maggior considerazione i primi non ho trascurato i secondi perchè la mancata trasmissione mediante vettori animali potrebbe anche essere dovuta ad incompleta conoscenza del virus.

Il primo gruppo I A 1 è il più atto ad includere il VMLL. Esso è abbastanza omogeneo poichè comprende virus a punto d'inattivazione termica mai superiore a 65°, punto di diluizione limite non superiore a 10^{-4}, longevità in vitro mai superiore a 7 giorni. Fra i virus di questo gruppo il « cabbage black ringspot virus » ha molte caratteristiche in comune con il VMLL. Anzitutto è trasmesso da afidi, in secondo luogo la malattia che determina in tabacco ed in *Nicotiana glutinosa* pur essendo diversa è dello stesso tipo di quella del VMLL : lesioni locali necrotiche in tabacco senza seguito sistemico e malattia sistemica in *N. glutinosa.* Un altro punto di affinità (come descritto a pag. 106) è la capacità degli afidi infetti di produrre lesioni locali necrotiche in seguito all'iniezione del virus. C'è però l'importante differenza che nel caso del VMLL le lesioni sono prodotte su *N. glutinosa* dall'afide *Cryptomyzus alboapicalis* e non dal *Myzus persicae* mentre nel caso dell'altro virus le lesioni sono prodotte su tabacco dal *M. persicae.* I due virus differiscono anche per altre importanti caratteristiche le principali delle quali sono : diversa serie di ospiti (il VMLL non infetta *Brassica chinensis* L., *Beta vulgaris* L., *Chenopodium amaranticolor* Coste e Reyn. ed altri ospiti del « cabbage black ringspot virus ») e diverse caratteristiche fisiche (il VMLL ha punto di diluizione limite maggiore, durata di longevità *in vitro* pure maggiore e punto d'inattivazione termica più basso.

---

(2) Si vedano a tal proposito le interessanti osservazioni di Harrison (1957) e l'ipotesi che un atropodo sia vettore nel terreno per il « raspberry leaf curl virus (Scottish) » ed il « beet ringspot virus ». Inoltre è stato recentemente dimostrato (cfr. Dunleavy, 1957) che il « tobacco ringspot virus » può essere trasmesso da Ortotteri Celiferi.

Il « cabbage ring necrosis virus » che secondo SMITH (1957) è probabilmente affine al « cabbage black ringspot virus » differisce dal VMLL in molte delle caratteristiche citate per quest'ultimo ; esso produce inoltre infezione sistemica in cetriolo.

Il « lily ringspot virus » causa in tabacco « White Burley » ed in *Nicotiana glutinosa*, unici ospiti finora noti che ha in comune con il VMLL, sintomi assai diversi da quelli prodotti da questo ultimo.

Il « nasturtium ringspot virus » che ha caratteristiche fisiche non molto dissimili da quelle del VMLL ne differisce perchè produce malattia sistemica in tabacco ed infetta il *Tropaeolum majus* L. e la *Vicia Faba* L. piante immuni al VMLL. Inoltre le prove di premunità sono risultate negative.

Il secondo gruppo di virus che è opportuno prendere in esame per le considerazioni fatte all'inizio del capitolo, che corrisponde alle chiavi II A 1, comprende i virus di cui non si conosce ancora l'insetto vettore, trasmissibili al tabacco ma non al fagiolo (1). Il « *Delphinium* ringspot virus », che secondo la R.A.M. (1957) potrebbe essere un ceppo del virus del mosaico del cetriolo, pur avendo qualche caratteristica comune al VMLL se ne differenzia per il punto d'inattivazione termica più alto, perchè non diventa sistemico in *Nicotiana glutinosa* mentre lo diventa in cetriolo e perchè infetta *Beta vulgaris* L. e *Datura Stramonium* L.

Il « *Pogostemon* virus 1 » di ROLAND (1950) è stato isolato da una Labiata (*Pogostemon patchouli*) che presentava sintomi simili a quelli che il VMLL produce talora nei suoi ospiti naturali. I due virus sono tuttavia diversi poichè il primo ha punto d'inattivazione termica assai più alto (70°C.) e diventa sistemico in tabacco ; inoltre non è trasmesso da insetti.

Il « ranunculus mosaic virus » produce in *Tetragonia expansa* sintomi molto simili a quelli causati inizialmente dal VMLL sullo stesso ospite ; esso però non diventa sistemico in *N. glutinosa* e determina su cetriolo tipiche aree anulari.

---

(1) Le suddivisioni basate sulla suscettibilità od immunità di questi importanti ospiti differenziali, che ritengo utili ai fini particolari della determinazione del VMLL, hanno valore solo relativamente alle cultivar che sono state fino ad oggi saggiate ed alle condizioni ecologiche che si hanno nelle serre sperimentali. Può infatti accadere che si metta in evidenza la possibilità di alcuni virus di infettare determinate cultivar di ospiti dapprima ritenuti resistenti - come avvenne per il virus del mosaico del tabacco rispetto al fagiolo — o di infettarle solo in particolari condizioni ecologiche, come avvenne per il virus del mosaico del cetriolo sempre rispetto al fagiolo.

Il « red currant ringspot virus » è stato isolato da *Ribes rubrum* L. (KLESSER, 1951) e quindi da un tipico ospite degli afidi appartenenti al genere *Cryptomyzus*. Questo virus è però diverso dal VMLL per il punto d'inattivazione termica più alto, perchè diventa sistemico in tabacco, pomodoro e spinacio della Nuova Zelanda, e perchè infetta la *Datura Stramonium*.

Il « tomato ringspot virus » ha rispetto al VMLL minor resistenza alla longevità « in vitro » ed inoltre diventa sistemico in tabacco, pomodoro e datura mentre non infetta la *N. glutinosa*.

Infine anche il « potato virus X » è diverso dal VMLL come ho già accennato nel precedente capitolo.

CONCLUSIONI

Non avendo ritrovato in Italia il VMLL non ho potuto sviluppare alcune ricerche che avevo in programma. La principale era quella di accertare se il VMLL attaccasse in natura anche piante coltivate. Mi proponevo infatti di cercare la malattia sugli altri ospiti del *Cryptomyzus alboapicalis* (v. nota 1 pag. 118) ed eventualmente anche sulle varie specie di *Ribes* che sono i tipici ospiti primari della maggior parte dei *Cryptomyzus*; è infatti noto (HILLE RIS LAMBERS, 1953) che il *C. galeopsidis* (Kalt.) svolge il suo ciclo fra *Ribes* spp. e varie Labiate fra cui il *Lamium purpureum* ospite del VMLL. Avrei inoltre desiderato inoculare artificialmente tali piante.

Ma in eventuali lavori di ricerca della serie degli ospiti del VMLL si dovrà tener presente che non solo il *C. alboapicalis* ma anche altri afidi vivono o possono vivere sui *Lamium* e che qualcuno di questi potrebbe essere vettore del virus. Da BOERNER e HEINZE (1957) si può infatti ricavare che su *Lamium album* e *L. purpureum*, o su ambedue le specie, vivrebbero in Europa i seguenti afidi: *Dysaulacorthum antirrhinii* (Macch.) che ha fra i suoi ospiti *Lamium album* e patata; *Cerosipha beccabungae* (Koch) che vive su *Lamium album*, *L. purpureum*, *Veronica*, *Frangula*, ecc.; *Myzotoxoptera staphyleae* (Koch) che vive su *Tulipa*, *Hemerocallis*, ecc. ed occasionalmente su *Lamium purpureum*; *Myzotoxoptera tulipaella* (Theob.) che vive su barbabietole, tulipani, ecc. e fu anche osservata su *Lamium album*.

In base alle proprietà, alla sintomatologia del VMLL ed alle prove di premunità che ho potuto compiere mi pare che il virus

studiato non sia uguale a nessun altro finora noto e che non esista quindi alcun dubbio che esso sia nuovo per la scienza.

Nella scelta del nome mi sono attenuto alle norme usate dalla maggioranza dei virologi ed al sistema adottato nei più recenti trattati di virologia sistematica (SMITH, 1957 e KOELER e KLINKOWSKI, 1954) e nell'elenco compilato dalla R.A.M. (1957) anche se ciò è, almeno nel mio caso particolare, tutt'altro che razionale. Il nome scelto, che ricorda il quadro sintomatologico della malattia nel suo principale ospite naturale finora trovato, non dice infatti nulla sulla vera natura del virus che è di tipo « ringspot».

In questo caso quindi non corrispondendo i sintomi degli ospiti naturali (Labiate) a quelli della maggioranza degli ospiti artificiali (tabacco, spinacio della Nuova Zelanda, *N. glutinosa*, ecc.) sarebbe assai più esplicativo includerlo provvisoriamente (1) nel genere *Annulus* (2) di HOLMES (1948) con il nome di *Annulus lamii.*

Le caratteristiche essenziali del nuovo virus sono le seguenti :

Virus del mosaico lieve del « Lamium »

(« *Lamium* mild mosaic virus »).

PIANTE OSPITI (quelle precedute da un asterisco sono gli ospiti naturali) :

Aizoaceae : Tetragonia expansa Murr.

Cucurbitaceae : Cucumis sativus L. (?)

Labiatae : Ballota nigra L. (?), **Lamium album* L., **L. purpureum* L., **Marrubium peregrinum* L., **M. vulgare* L.

Solanaceae : Nicotiana glutinosa L., *N. rustica* L., *N. tabacum* L., *Petunia hybrida* Hort., *Solanum Lycopersicum* L. (?).

---

(1) È augurabile che la nomenclatura binomia linneana trovi presto anche per i virus quelle basi di stabilità e di razionalità che ne permettano un uso più generale. Il problema è particolarmente sentito dagli studiosi di lingua neolatina poichè la traduzione dei nomi volgari inglesi e tedeschi è sovente assai difficoltosa e può portare a notevoli confusioni. Oltre al fatto che certe sfumature sono intraducibili (si pensi ad es. ai vari « streak » e « stripe » delle Graminacee, ecc.), nelle lingue neolatine per la diversa costruzione sintattica non è possibile far precedere al nome descrivente i sintomi (mosaico, arricciamento, giallume, ecc.), od alla parola virus, quello della pianta ospite cosicchè i vari virus non sono neppure elencabili alfabeticamente come in inglese od in tedesco.

(2) Questo genere include però virus troppo diversi fra loro come si può constatare nella tabella VI.

SINTOMI

Nelle Labiate mosaico per lo più lieve. In *Nicotiana glutinosa* e *Petunia hybrida* infezione primaria seguita da infezione secondaria prevalentemente necrotica. In tutti gli altri ospiti solo sintomi locali.

TRASMISSIONE

Per inoculazione meccanica. Mediante l'afide *Cryptomyzus alboapicalis* (Theob.) che risultò anche vettore naturale.

CARATTERISTICHE FISICHE

Punto di inattivazione termica : fra 50° e 55°C.

Punto di diluizione limite: fra 10^{-2} e 10^{-4} a seconda dell'ospite da cui provenne il succo.

Longevità *in vitro* : 5 ½ — 6 giorni.

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Distretto di Cambridge (Inghilterra).

Concludendo questo lavoro desidero esprimere pubblicamente i miei più vivi ringraziamenti al Dr. Kenneth Smith per la generosa ospitalità nel Suo Laboratorio e per l'illuminata guida, alla gentile Signorina Margaret Short per l'aiuto, l'assistenza ed i consigli, al Signor Simon Frey per le fotografie abilmente effettuate ed al Dr. H.L.G. Stroyan, del « Plant Pathology Laboratory » di Harpenden, per la determinazione dell'afide *Cryptomyzus alboapicalis* e per le utili notizie fornitemi.

RIASSUNTO. Dopo una premessa sull'importanza delle piante spontanee quali ospiti di virus che sono o che possono essere dannosi alle piante coltivate viene fatta una breve rassegna dei lavori più recenti sull'argomento.

Nella prima parte sono illustrate alcune osservazioni sugli ospiti naturali (*Lamium album*, *L. purpureum*, *Marrubium peregrinum* e *M. vulgare*) in cui il virus del mosaico lieve del *Lamium* determinò sintomi di solito assai blandi — consistenti in schiarimenti delle nervature, lieve mosaico e deformazione delle foglie — che talora furono completamente mascherati. La malattia è stata finora trovata solamente nella zona di Cambridge (Inghilterra). L'isolamento da *M. peregrinum* venne effettuato da piante allevate nel Giardino botanico.

Nella seconda parte sono descritte le varie ricerche sperimentali. 15 specie appartenenti a 9 famiglie sono risultate immuni : fra esse si ricorda il fagiolo, la *Vigna sinensis*, la *Datura Stramonium*, il *Tropaeolum majus*,

la barbabietola ed il *Chenopodium amaranticolor*. Gli ospiti finora trovati appartengono a tre famiglie : *Aizoaceae*, *Labiatae* e *Solanaceae*. Le Labiate, la *Nicotiana glutinosa* e la petunia subirono infezione sistemica, ma nelle ultime due specie l'infezione secondaria, che fu prevalentemente necrotica, venne preceduta da sintomi primarii. Tutti gli altri ospiti (*Tetragonia expansa*, *Nicotiana rustica* e tre cultivar di tabacco) manifestarono solo sintomi locali. Il virus fu facilmente reisolabile mediante inoculazione meccanica da tutti gli ospiti ; solamente nel caso della *Tetragonia expansa* mentre fu trasmissibile in piante della stessa specie non lo fu in piante di altre specie probabilmente a causa di sostanze inibitrici. Prove di trasmissione mediante l'afide *Myzus persicae* risultarono positive in un solo caso su 62 (1,61 %), mentre l'afide *Cryptomyzus alboapicalis* trovato su *Lamium album* si dimostrò attivissimo vettore della malattia. Su 42 prove ne riuscirono 20 e cioè il 47,61 %, considerando però quelle nelle quali il periodo di alimentazione sulla pianta infetta non fu superiore a $2^h15'$ i casi positivi furono il 65,38 %. Una particolarità interessante dei *C. alboapicalis* infetti fu quella di produrre lesioni locali necrotiche in *N. glutinosa*.

Le caratteristiche fisiche risultarono : punto d'inattivazione termica compreso fra 50° e 55°C. ; punto di diluizione limite variabile da 10^{-2} a 10^{-4} a seconda dell'ospite saggiato ; longevità *in vitro* inferiore a 7 giorni (5½-6 giorni).

Prove di protezione incrociata furono compiute, con risultati negativi, con i seguenti virus : « chrysanthemum aspermy virus », « cucumber mosaic virus », « nasturtium ringspot virus », « potato virus X », « tobacco ringspot virus » e « tomato aucuba mosaic virus ».

Nella terza parte, relativa alla determinazione, viene fatto dapprima un confronto con i virus segnalati nei *Lamium* e nelle Labiate affini, poi con quelli di tipo « maculatura anulare » più simili al virus in istudio. A tal fine questi ultimi vengono classificati secondo alcune delle loro principali caratteristiche in un prospetto analitico. Il virus studiato, non essendo risultato uguale a nessun altro finora segnalato, viene considerato nuovo e denominato « virus del mosaico lieve del *Lamium* ».

SUMMARY. Viruses of wild plants. I. " *Lamium* mild mosaic ", a new virus of the ringspot family. — The experimental part of this work was carried out at the Agricultural Research Council Virus Research Unit, Cambridge, where the writer was a guest-worker during 1953.

In a general introduction the importance of wild plants as sources of virus infection is stressed. The systemic invasion of viruses, with the possibility of complete masking, and transmission by insects, makes their relationship with wild plants even more important than that of other parasites with their wild hosts.

" Materials and Methods " contains a brief description of sap-inoculations, insect-transmissions, determinations of physical properties, cross-inoculations, etc., which were carried out according to the routine used at Cambridge.

The first part of the paper is entirely devoted to field observations. The natural host-rang of *Lamium* mild mosaic virus (LMMV), was found to be limited to *Lamium album*, *L. purpureum*, *Marrubium vulgare*, and *M.*

peregrinum. All these *Labiatae* showed mild symptoms of mottle and distortion (Fig. 1) and the tendency to recover from the disease. It is unlikely that these would have been discovered if the author had not been interested in a more noticeable disease which produces enations on the leaves of *Ballota nigra*.

Since the first isolation of LMMV from *Lamium album* the author has tested 62 plants belonging to 12 species of *Labiatae* (Table I), mostly wild, some cultivated, and a few collected in the Cambridge Botanic Gardens. The virus was isolated 10 times from *L. album*, and once from each of the other 3 natural hosts. The majority of these plants were found in the locality of Cambridge, usually in ditches alongside roads or paths. In one case the virus was isolated from *Marrubium peregrinum* growing in the Botanic Gardens at Cambridge.

In Italy the writer was unable to find either LMMV or its aphis vector (*Cryptomyzus alboapicalis*) on wild *Labiatae*.

The second part of this paper is a description of the experimental results. The host-range, so far, seems to be limited to 3 families; the *Aizoaceae*, *Labiatae* and *Solanaceae*, with the *Cucurbitaceae* as a doubtful 4th. All the species listed on page 100 seemed to be immune to LMMV (those marked with an asterisk were inoculated back to test plants).

The symptoms caused by LMMV in the various host plants were as follows:

AIZOACEAE - *Tetragonia expansa*. Whitish local rings (Fig. 3, A) appeared 5-13 days after inoculation. No systemic spread of the virus followed, but as a rule the initial rings became larger and more necrotic (Fig. 3, B). Under summer conditions the local lesions were less necrotic.

The LMMV could be transmitted mechanically from one plant of *T. expansa* to another, but not from this species to other hosts of the virus The infectivity could be recovered by dilution (Table II) but neither heating to 50° C. nor ageing for 5 days had any effect on the inhibitor.

LABIATAE - *Lamium album* and *L. purpureum* could be infected by either sap-inoculation or insect transmission and after 9 to 20 days reacted with a mild mosaic and vein clearing, frequently accompanied by some distortion (Fig. 2). The disease was systemic but masked in about 20% of the inoculated plants.

SOLANACEAE - *Nicotiana glutinosa*. Local infections occurring on the older leaves were followed by systemic infection. At first this was mostly necrotic (Figs. 4, A & 6, B), but later caused malformation, mosaic, distortion and narrowing of the leaves (Figs. 5 & 4, B). The local lesions produced on this host (Fig. 6, C) by infective aphids (*Cryptomyzus alboapicalis*) were similar to those produced in Tobacco by *Myzus persicae* with Cabbage black ringspot and related viruses. The local lesions were followed by systemic infection as with sap inoculation.

Nicotiana rustica and *N. tabacum* (var. Kawala, Samsun and White Burley). The virus usually produced necrotic local lesions without systemic spread (Figs. 6, D; 7 & 8, A). Under autumn conditions the symptoms on White Burley were more a necrotic oak-leaf pattern (Figs. 8, B & 9) than a ringspot, but the disease did not really become systemic.

Petunia hybrida reacted more or less like *N. glutinosa* (Fig. 6, A), but the systemic disease was even more severe.

Insect transmissions were successful in 1 case out of 62 with *Myzus persicae*, and in 20 cases out of 42 with *Cryptomyzus alboapicalis*. This latter aphis which was in one instance found naturally infected on *Lamium album*, was a very active vector of LMMV. Seventeen out of 26 positive results were obtained with aphis feeding times less than 2 hours 15 minutes. Better results were obtained when the aphids were starved before feeding (Tables IV & V).

The thermal inactivation point of the LMMV was 55° C. The dilution end point was found to vary between 10^{-2} and 10^{-4} according to the host plant (Fig. 10). The longevity «in vitro» was 5 ½-6 days. Cross-protection trials were negative using the following viruses : — Chrysanthemum aspermy virus ; Cucumber mosaic virus ; Nasturtium ringspot virus ; Potato virus X ; Tobacco ringspot virus ; Tomato aucuba mosaic virus.

In the third part of this paper the LMMV is compared with viruses previously described on *Lamium* and similar *Labiatae*. A comparison is also made with the viruses of the ringspot family, and a descriptive key is given to classify them (Table VI). The virus described in this paper is considered by the writer to be a new one and the name " Lamium mild mosaic virus " is proposed.

The author wishes to express his sincere thanks to Dr Kenneth M. Smith, O.B.E., F.R.S., for generous hospitality in his Laboratory and guidance in the work, to Miss Margaret N. Short for assistance, advice and for correcting the English text, to Mr Simon Frey for the photographs and to Dr H.L.G. Stroyan, Plant Pathology Laboratory, Ministry of Agriculture and Fisheries, Harpenden, for identifying *Cryptomyzus alboapicalis* and giving much useful information.

BIBLIOGRAFIA

Boerner C. e Heinze K., *Aphidina-Aphidoidea*, in P. Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. V Band : H. Blunck, Tierische Schaedlinge an Nutzpflanzen, IV Lief., II Teil, V Aufl., 1-402, Parey, Berlin, 1957.

Burnett G., Stunt - a virosis of Delphinium. « Phytopathology », XXIV, 467-481, 1934.

Cadman C. H., Studies on the etiology and mode of spread of Scottish raspberry leaf curl disease. « Journ. Hortic. Science », XXXI, 111-118, 1956.

Clinch P. E. M., The identity of the top-necrosis virus in Up-to-Date potato. « Sci. Proc. R. Dublin Soc. », N. S., XXIII, 18-34, 1942 (da R.A.M., XXII, 76-77, 1943).

Id., Observations on a severe strain of potato virus X. Id., N. S., XXIII, 273-299, 1944.

Dunleavy J. M., The grasshopper as a vector of tobacco ringspot virus in soybean. « Phytopathology », XLVII, 681-682, 1957.

Hamlyn B. M. G., Quantitative studies on the transmission of cabbage black ringspot virus by *Myzus persicae* (Sulz.). « Ann. appl. Biol. », XL, 393-402, 1953.

Harrison B. D., Studies on the host range, properties and mode of transmission of beet ringspot virus. Id., XLV, 462-472, 1957.

Hein A., Beitraege zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. I. Das *Malva*-Virus. « Phytopath. Zeitschrift », XXVIII, 205-234, 1956.

Id., Id. II. Das Luzernemosaik- und das *Lamium*-Gelbmosaikvirus. Id., XXIX, 79-116, 1957 a.

Id., Id. III. Das Gurkenmosaikvirus. Id., XXIX, 204-229, 1957 b.

Hille ris Lambers D., Contributions to a monograph of the Aphididae of Europe, V. « Temminckia », IX, 1-176, 1953.

Hoggan I. A. e Johnson J., A virus of crucifers and other hosts. « Phytopathology », XXV, 640-644, 1935.

Hollings M., Anemone mosaic. A virus disease. « Ann. appl. Biol. », XLV, 44-61, 1957.

Holmes F. O., A comparison of the experimental host ranges of tobacco-etch and tobacco mosaic viruses. « Phytopathology », XXXVI, 643-659, 1946.

Id., Order Virales. The filterable viruses, in Bergey's Manual of determinative bacteriology. VI Edit., 1127-1286, Williams & Wilkins, Baltimore, 1948.

Johnson J. e Hoggan I. A., A descriptive key for plant viruses. « Phytopathology », XXV, 328-343, 1935.

Klesser P. J., A virus disease of red currant (*Ribes rubrum* L.). « Ann. appl. Biol. », XXXVIII, 707-713, 1951.

Koehler E. e Klinkowski M., Viruskrankheiten, in P. Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. II Band, I Lief., VI Aufl., 1-770, Parey, Berlin, 1954.

Larson R. H., Stahmann M. A. e Walker J. C., The induction of mutants in potato virus X by nitrogen mustard. « Proc. second conf. on potato virus diseas., 1954 », 93-99, Veenman & Zonen, Wageningen, 1955.

MacClement W. D. e Richards M. G., Virus in wild plants. « Canad. Journ. of Botany », XXXIV, 793-799, 1956.

Protsenko A. E., Virus and virus-like plant diseases of the Central Botanical Garden. « Bull. bot. Gdn, Moscow 1957 », XXVII, 98-107, 1957 (da R.A.M., XXXVI, 573, 1957).

R.A.M., Common names of virus diseases used in the Review of Applied Mycology. « Rev. Appl. Mycol. », XXXV, Supplement, 1-78, 1957.

Roland G., Recherches virologiques sur *Isoloma hirsutum*, *Pogostemon patchouli* et *Salvia splendens*. « Parasitica », VI, 8-13, 1950.

Smith K. M., A Textbook of Plant Virus Diseases. I Edit., 1-615, Blakiston, Philadelphia, 1937 ; e II Edit., 1-652, Churchill, London, 1957.

Smith K. M. & Markham R., Mumps, Measles & Mosaics. 1-160, Collins, London, 1954.

Stroyan H. L. G., The identification of aphids of economic importance. « Plant Pathology », I, 42-48, 1952.

Theobald F. V., Notes on new and little-know British Aphides. « Entomologist », XLIX, 182, 1916.

Verplancke M. G., Hôtes nouveaux des maladies a virus filtrants de la betterave. « Bull. Soc. R. de Botanique de Belgique », LXV, 137-147, 1933.

Carla Modugno Pettinari

CYCLOCONIUM SP. SU ALCUNI ESEMPLARI DELLA FLORA MEDITERRANEA SEMPREVERDE

Su esemplari di specie sempreverdi appartenenti alla flora spontanea mi è accaduto di notare più volte la presenza di parassiti fungini, soprattutto sulle foglie. Le osservazioni microscopiche che ho effettuato per determinare la natura dei parassiti mi hanno portato a conclusioni di qualche interesse. Ho osservato ad esempio attacchi di *Cyclonium* sp. sulle seguenti specie: *Quercus ilex* L., *Phillyrea variabilis* L. var. *angustifolia*, *media* e *latifolia* e raramente su *Ligustrum vulgare* L.

Formano argomento della presente nota le descrizioni delle caratteristiche più salienti di questo fungo parassita sulle differenti matrici ed i risultati di inoculazioni sperimentali su foglie di piantine di olivo in serra ed in campo con ceppi provenienti dalle specie spontanee suddette.

La prima segnalazione di *Cycloconium* sp. su *Quercus ilex* è opera di Peglion che nel 1896 dava una descrizione del fungo, proponendo nell'ambito della specie *C. oleaginum* Cast., una nuova varietà con la seguente diagnosi:

« A. *C. oleagino* differt conidiis forte ad septa constrictis, inaequaliter divisis, loculo inferiore crassiore et rotundo, loculo superiore conoideo 17-20 × 12-15. Habitat in foliis vivis *Quercus Ilicis* prope Portici et Avellino ».

Questo parassita era stato notato dall'A. nel corso di alcune osservazioni sull'« occhio di pavone » dell'olivo, solamente sulle giovani foglie di leccio, fatto questo che veniva contrapposto a quanto in genere era stato in precedenza osservato su olivo, dove vengono attaccate con maggiore frequenza le foglie adulte. Le prove culturali effettuate dall'A. davano, sui substrati usati, solamente una stentata germinazione dei conidi. Alcuni anni più tardi Arnaud (1931) esaminando lo stesso parassita su leccio rilevava differenze tali, tra quest'ultimo e la specie più comunemente parassita su olivo ,da giustificare a suo parere la creazione

di una nuova specie nel genere *Cycloconium*. SACCARDO (1895) riporta sostanzialmente la diagnosi latina di PEGLION. Sui testi didattici più comunemente usati, per la scarsa importanza attribuita all'argomento, si hanno talvolta notizie incomplete (FERRARIS 1941), ed in altri casi non si fa menzione del parassita su leccio (VIENNOT BOURGIN 1949). In realtà, secondo quanto io stessa ho potuto rilevare, il parassita è notevolmente diffuso e danneggia in maniera considerevole talvolta anche il fogliame di lecci allevati a scopo ornamentale (Fig. 1).

L'improvviso e rapido affermarsi dell'« occhio di pavone » dell'olivo in Francia poneva agli studiosi dell'argomento il problema dell'origine di questa infezione. Nel lavoro di BOYER (1891) sul *Cycloconium oleaginum* Cast. dell'olivo si accenna ad una ricerca effettuata da questo A. per individuare la presenza del parassita su oleacee spontanee in vicinanza di oliveti colpiti da *Cycloconium*. Mentre PEGLION (1912) trovava *Cycloconium* su « olivastrella » nel 1895, BOYER non era riuscito a stabilire la presenza del parassita su nessuna oleacea spontanea. Alcuni anni più tardi BUBAK (1914) lo segnalava su *Phillyrea latifolia* nei pressi del lago di Garda, ritenendolo omologabile a quello parassita su olivo. Secondo ARNAUD (1925) questo parassita era già presente su foglie di *Phillyrea media* nell'Erbario di *Dematiaceae* del 1850. PEGLION (1912) lo segnalava su *Phillyrea angustifolia*, ritenendolo eguale a quello parassita su olivo.

Alcuni anni più tardi NICOLAS ed AGGERY (1928) trovando questo fungo su *Phillyrea angustifolia* nell'Orto botanico di Tolosa vengono tra l'altro colpiti dal fatto che soltanto la var. *angustifolia* mostra l'infezione, mentre le varietà *media* e *latifolia* che crescono vicino alla pianta colpita risultano immuni. Come dirò tra breve questo fatto si verifica anche tra soggetti della stessa varietà di *Phillyrea*, mostrando questa specie una caratteristica resistenza o recettività variabilissime da soggetto a soggetto.

Secondo gli stessi AA. inoltre le differenze riscontrate tra il parassita su *Phillyrea* e quello su olivo sono considerevoli, tanto da giustificare la creazione di una nuova specie nell'ambito del genere *Cycloconium*. Riporto quì di seguito la diagnosi latina data dagli AA. :

« *Cycloconium Phillyreae* nov. sp. Maculis amphigenis, circularibus, 1-4 mm. latis, primum fuscis, deinde griseis, margine nigrescenti cinctis, sparsis vel confluentibus ; conidiophoris in concentrico ordine dispositis, 1-2 conidia ferentibus ; conidiis

ovoideis, rectis vel arcuatis, luteo viridibus, guttulatis, pariete crassa, verruculosa, 1-3 septatis, 16-34 7,5-10,5.

In foliis vivis *Phillyreae angustifoliae* L. in horto laboratorii botanici Universitatis Tolosanae, maio ».

Secondo quanto ho potuto leggere fino ad oggi non esistono segnalazioni di *Cycloconium* sp. parassita su *Ligustrum* sp.

Il materiale per le seguenti osservazioni è stato raccolto prevalentemente su arbusti della flora spontanea, ad eccezione di qualche campione di foglie di leccio proveniente da individui coltivati a scopo ornamentale.

Personalmente ho riscontrato presenza di *Cycloconium* nella macchia di alcune collinette in vicinanza di Massa, nella macchia di Quercianella (Livorno), per quanto in numero scarso in ambedue le località. Il parassita si presenta molto più frequente ed abbondante, sempre su leccio, nella macchia di Castel Fusano (lido di Roma) su lecci coltivati a scopo ornamentale nella zona di Tivoli (Roma) e su esemplari che crescono allo stato spontaneo nella macchia della zona di Cassino, in vicinanza del cimitero polacco.

Il prof. Grasso mi ha comunicato verbalmente di aver ritrovato questo parassita su leccio nella zona di Pistoia, anni or sono.

Tenendo inoltre conto delle segnalazioni effettuate inizialmente dal prof. Peglion nella zona di Portici e di Avellino è agevole concludere che il parassita ha una larga diffusione nella nostra Penisola.

Per quanto riguarda il ritrovamento di *Cycloconium* su *Phillyrea variabilis* L. dirò subito che quest'ultima specie non mostra nè la stessa intensità nè la stessa frequenza di infezione riscontrata su leccio, per quanto la specie, con tutte le sue varietà, risulti diffusissima nella macchia mediterranea sempreverde. Ricerche effettuate nella zona di Massa sono risultate infruttuose e così pure quelle effettuate nella zona di Quercianella e Castiglioncello (Livorno). Ricerche effettuate su esemplari sparsi e su brevi tratti di macchia di altri punti della costa tirrenica non hanno dato risultati migliori. Anche nella zona di Cassino e nei dintorni di Napoli, in particolare nei pressi del lago di Averno, il parassita non è stato da me ritrovato. Ritengo che in alcuni casi le ricerche si siano dimostrate infruttuose perchè svolte in stagioni durante le quali le infezioni risultano molto rare o comunque difficilmente diagnosticabili. In alcune zone però, come ad es. nei pressi del lago

di Bracciano, l'infezione non era presente in nessuna stagione dell'anno.

Nella macchia di Castel Fusano nei pressi di Roma l'infezione si presenta piuttosto abbondante su alcuni soggetti, ma in nessun caso può considerarsi frequente.

Ho trovato foglie infette, nella macchia suddetta, sia su *Pillyrea variabilis* var. *angustifolia*, che su var. *media* e *latifolia*. Le infezioni anfigene sono più frequenti su foglie di rami prossimi al terreno.

Le epoche durante le quali la ricerca di materiale infetto è risultata più fruttuosa sono state l'autunno e la primavera inoltrata; in quest'ultima stagione in genere le macchie sono meno abbondanti ma più facilmente visibili per la presenza frequente di un alone giallo che circonda la superficie colpita. A volte questo è già evidente nel tardo autunno; in tal caso si tratta di infezioni in stadio avanzato, e le foglie con numerose infezioni di questo aspetto, non superano di solito l'inverno, ma cadono durante la stagione fredda.

È noto che il *Ligustrum vulgare* L. è meno frequente di altre specie sempreverdi nelle zone prossime alla costa, e le ricerche di questa specie e del parassita relativo dopo un primo occasionale ritrovamento sono risultate spesso infruttuose. Soltanto recentemente mi è stato possibile riscontrare le stesse macchie trovate anni or sono, su esemplari della macchia di Castel Fusano, nella zona più interna della stessa. Altre infezioni sono state da me ritrovate recentemente su un esemplare isolato di *Ligustrum vulgare* nella macchia ad ovest di Anguillara, in vicinanza del lago di Bracciano.

Purtroppo il materiale a mia disposizione per questo studio è stato fino ad oggi molto scarso; da quanto fin'ora è stato osservato ritengo si tratti di una specie di *Cycloconium* che dimostra una notevole affinità con quello più comunemente riscontrato su *Phillyrea*.

CARATTERISTICHE BIOLOGICHE E MORFOLOGICHE DI *CYCLOCONIUM QUERCI-ILICIS* (PEGLION) ARNAUD, PARASSITA SU FOGLIE DI LECCIO.

Secondo quanto ho potuto osservare in natura le infezioni di questo parassita su foglie di leccio cominciano nelle zone più umide subito dopo le prime pioggie estive e proseguono, con in-

tensità variabile a seconda dell'andamento stagionale, durante tutto l'autunno. Se la temperatura si mantiene mite, durante l'inverno si continuano ad avere nuove infezioni. Queste ultime diminuiscono rapidamente di numero appena la temperatura raggiunge e supera i 25°C e l'umidità relativa si abbassa notevolmente.

La formazione dei primi conidi è stata osservata su macchie di poche settimane di vita e la propagazione della malattia avviene rapidamente ad opera di conidi che spesso germinano, come accade anche per l'olivo, sulla stessa foglia che li ha generati, producendo nuove macchie di infezione.

Il parassita abitualmente colpisce foglie adulte e nei casi da me osservati non è stata notata una maggior frequenza di infezione sulle giovani foglie. La Fig. 1 illustra una abbondante infezione riscontrata su soggetti coltivati a scopo ornametale.

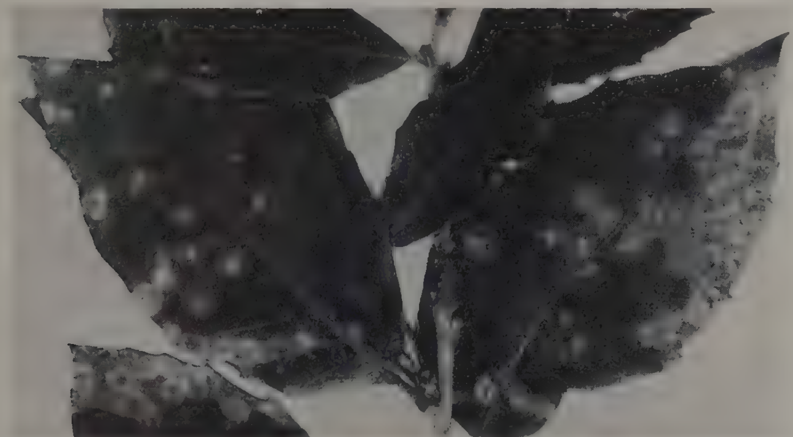


Fig. 1. — Foglie di leccio colpite da *Cycloconium Querci-Ilicis* (Peglion) Arnaud.

Anche in soggetti di macchia comunque, è facile riscontrare infezioni dello stesso grado di intensità. Le foglie riprodotte in fotografia sono state raccolte alla fine del mese di novembre ed è agevole osservare come le giovani foglie risultino perfettamente sane. L'osservazione di PEGLION (1896), il quale aveva notato che la malattia colpiva quasi esclusivamente le giovani foglie, è stata probabilmente determinata da condizioni climatiche particolari verificatesi in quell'epoca. È noto infatti che le piante sem-

preverdi durante gli autunni particolarmente miti delle regioni meridionali producono in abbondanza nuove foglie. È probabile che, nelle annate in cui si hanno rapidi ed improvvisi abbassamenti di temperatura, queste foglie ancor giovani dimostrino una scarsa resistenza alle infezioni per il sopraggiungere di condizioni climatiche avverse. Ritornando la temperatura mite, i conidî prodotti sulle foglie infette si distaccano e germinano facilmente dove sono stati trasportati da fattori occasionali e quindi anche sulle giovani foglie. Un fenomeno molto simile è stato da me osservato a proposito di infezioni nuove di « occhio di pavone » su giovani foglie di olivo nell'autunno 1954 nella zona di Rieti. Al settembre ed ottobre particolarmente miti era succeduto improvvisamente un periodo stagionale rigidissimo, al quale aveva fatto di nuovo seguito un decorso stagionale mite. In dicembre su numerosissime giovani foglie di polloni di olivo erano ben visibili nuove infezioni di « occhio di pavone », in numero e con frequenza veramente insolita, mentre le foglie adulte mostravano un attacco di proporzioni normali.

Le giovani infezioni autunnali si manifestano su foglie di leccio con una zona circolare lievemente decolorata, di diametro variabile tra i 2 ed i 5 mm. Col progredire dell'infezione la zona infetta diventa bruno-rossastra ed infine bruno-scura al centro mentre tutt'intorno si nota, se l'infezione subisce un arresto, una sottile circonferenza quasi nera. Se le condizioni ambientali si mantengono favorevoli al progredire dell'infezione invece, la parte centrale della macchia si copre di una efflorescenza grigio-chiara che indica in genere l'avvenuta produzione di conidi. In seguito le zone infette possono essere circondate da un alone giallastro a margine non bene definito, che a sua volta può scindersi in vari cerchi concentrici diventando man mano bruno e ricoprendosi della tipica efflorescenza grigia (Fig. 1). In tal caso la parte centrale dissecca e se i centri di infezione sono numerosi e vicini, muoiono interi tratti di lembo fogliare, dando alle foglie un aspetto caratteristico ; le piante così attaccate possono mostrare apprezzabili segni di sofferenza per l'avvenuto disseccamento di vaste superfici fogliari. Le foglie più colpite cadono nel giro di pochi mesi. In genere le infezioni giovani non sono visibili sulla pagina inferiore della foglia, nè mi risulta, secondo le osservazioni effettuate, che questo parassita attacchi abitualmente le foglie sulla pagina inferiore anche se non escludo che in via eccezionale ciò possa verificarsi.

Cospargendo la superficie fruttificante di una macchia con del collodio in soluzione, ed esaminando la pellicola ottenuta, appare, nella maggior parte dei casi, un fatto di particolare interesse. Si nota infatti che spesso le ife fertili decorrono sopra la cuticola della foglia e non al di sotto come gli AA. che per primi hanno studiato questo fungo mediante sezioni tangenziali hanno affermato. Questo fatto è stato riscontrato su tutto il materiale osservato, avendo avuto cura di esaminare campioni di provenienze diverse, in differenti epoche.

Con ciò non escludo che alcune ife fertili mostrino decorso subcuticolare lasciando emergere alla superficie caratteristici conidiofori rotondi che producono conidi bi-o pluri-cellulari. In genere però le ife fertili decorrono con più frequenza sulla superficie della foglia e portano numerosi conidiofori rotondeggianti o leggermente ovali : in tal caso orientati parallelamente all'ifa che li ha prodotti secondo il loro diametro più lungo (Fig. 2). Questo fatto, cioè la

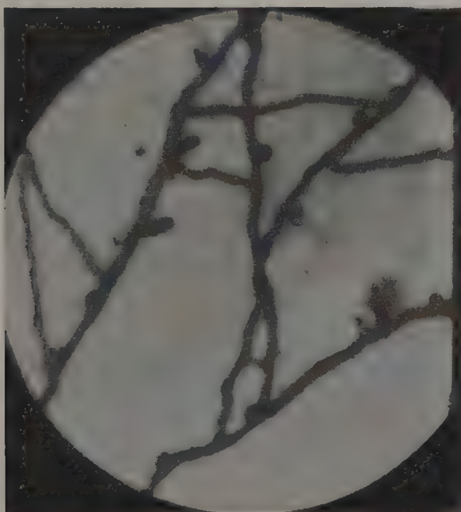


Fig. 2. — Ife fertili di *Cycloconium Querci-Ilicis* (Peglion) Arnaud decorrenti sulla pagina superiore di foglia di leccio.

presenza di ife fertili decorrenti in superficie, costituisce a mio parere un dato di notevole importanza che unito ad altre caratteristiche, può senz'altro far ritenere il *Cycloconium* del leccio una specie distinta da quella dell'olivo.

Le ife sterili che decorrono al di sotto della cuticola possono ricordare per altro il decorso di ife consimili di *Cycloconium oleaginum* Cast. e come queste presentano spesso caratteristiche ramificazioni dicotomiche. In genere sono ialine e sottili, mentre le ife fertili appaiono brune e di diametro maggiore. I conidiofori, rotondi od ovali, e spesso aderenti all'ifa madre, sono disseminati con notevole frequenza sulle ife fertili; essi producono all'apice od anche lateralmente i conidi caratteristici della specie, di norma bicellulari. La cellula basale di questi ultimi, da non confondersi ad una osservazione grossolana con il conidioforo, è decisamente più rotonda, più scura e più grossa della apicale, che di solito germina per prima, emettendo all'apice un promicelio ialino o leggermente colorato. In alcuni casi si nota che l'origine del promicelio è laterale. Di rado si osserva, e quasi sempre dopo che la cellula apicale ha già emesso il suo promicelio, l'emissione di un promicelio anche ad opera della cellula basale del conidio. In genere ogni conidioforo porta un sol conidio, ma a volte, quando la formazione di un primo conidio è avvenuta lateralmente, si può osservare la produzione di un altro conidio sul medesimo conidioforo. Come è già stato detto di solito i conidi sono bicellulari, ma a volte la cellula basale si allunga in maniera insolita e si nota in questa ultima la comparsa di un altro setto. Nelle osservazioni condotte fino ad oggi non mi è stato possibile osservare la presenza di conidi con più di due setti. Contrariamente a quanto ha osservato PEGLION nella zona di Avellino ed a Portici, ho notato che la produzione di conidi di *Cycloconium* su leccio è notevole, soprattutto in autunno anche se non raggiunge la grande fertilità del corrispondente parassita su olivo.

Ho notato inoltre che effettivamente in tutto il materiale osservato la strozzatura tra la cellula basale del conidio e quella apicale è abbastanza evidente. Le dimensioni dei conidi non presentano una variabilità eccessiva; la moda si aggira intorno a μ 18 × 13. La germinazione dei conidi in agar-peptone risulta buona e da questi si sviluppano direttamente colonie scure, ad accrescimento lento che ricordano per alcune caratteristiche quelle di una razza di *Cycloconium oleaginum* Cast. comune in Italia. Il parassita si accresce molto stentatamente in substrati poveri ed in alcuni degenera rapidamente e muore.

Sezioni trasversali effettuate su macchie in diversi stadi di sviluppo hanno confermato il risultato di osservazioni condotte sul parassita dell'olivo e cioè che il micelio vegetativo ialino non

rimane soltanto al di sotto della cuticola, ma col progredire della infezione si addentra nel palizzata, penetrando tra cellula e cellula e raramente assume decorso intracellulare nei tessuti ancor vivi. La penetrazione del micelio nelle cellule vive ne determina la morte. Con la morte dei tessuti si ha l'invasione delle cellule dove il fungo probabilmente vive anche come saprofita. Questa ipotesi risulta avvalorata dal fatto che da tessuti apparentemente morti ed invasi dal fungo ho potuto isolare micelio ancora vivo e capace di dare in coltura colonie caratteristiche del fungo.

Ritengo utile riferire che nel corso di prove sperimentali è stato possibile ottenere infezioni di foglie di olivo (su piante di olivo di tre anni, di varietà « frantoio » e « leccio ») con *Cycloconium Querci Ilicis* (Peglion) Arnaud. Per effettuare le inoculazioni sono stati usati conidi provenienti direttamente da matrice e sospesi in una soluzione previamente sterilizzata di agar 1°/₀₀, peptone 2°/₀₀, e tracce di cloruro di sodio, in acqua. Si è notata una decolorazione tipica a macchie giallastre sulle foglie infette ; il micelio si è sviluppato in superficie ed è penetrato in alcuni punti nell'interno della foglia, ma l'infezione non è andata oltre questo stadio e mentre ho notato la formazione di qualche conidioforo, non mi è stato possibile osservare presenza di conidi maturi, anche a distanza di parecchie settimane dal giorno dell'inoculazione. Il parassita è stato reisolato.

L'epoca migliore per praticare queste infezioni artificiali in serra fredda si è dimostrata la stagione autunnale.

Caratteristiche biologiche e morfologiche di *Cycloconium Phillyreae* Nicolas et Aggery, parassita su foglie di oleacee

È interessante osservare che la grande diffusione di *Cycloconium Querci-Ilicis* Arnaud non trova riscontro nel parassita di *Phillyrea*, appartenente allo stesso genere. Ciò può derivare in parte dal fatto già accennato che questa specie presenta un alto grado di resistenza individuale. Si può dare il caso ad esempio che in una zona della macchia ricca di esemplari di *Phillyrea variabilis*, un solo individuo risulti infetto ed altri contigui e posti in modo da garantire un sicuro contagio, si mantengano perfettamente sani.

Dirò subito che, dalle osservazioni effettuate, scaturiscono sostanziali differenze tra *C. oleaginum* Cast. e le sue razze osservate

su olivo ed il *C.* riscontrato su *Phillyrea.* Con ciò non si esclude che, per il determinarsi di condizioni ambietali particolari si sia resa possibile anche in natura l'infezione su olivo per opera di *Cycloconium* parassita su *Phillyrea.* Attualmente comunque, e secondo le osservazioni fin'ora condotte, ritengo di poter definire, con NICOLAS ed AGGERY (1928), il *Cycloconium* parassita su *Phillyrea,* come una specie a sé stante e non già come una varietà nell'ambito della specie *Cycloconium oleaginum* Cast. È utile però ricordare che, morfologicamente parlando, l'affinità tra *C. oleaginum* Cast. e *C. Phillyreae* risulta maggiore che non con *C. Querci-Ilicis* Arnaud parassita su leccio.

La biologia *Cycloconium* parassita su *Phillyrea* ha molti punti in comune con le altre specie del Genere. Anche questa specie produce conidi caratteristici e predilige per le nuove infezioni l'epoca autunnale nelle zone nelle quali la temperatura in questa stagione si mantiene sempre superiore a 6-8°C. I conidi vengono prodotti sulle parti infette dopo poche settimane dalla penetrazione del fungo e possono germinare sulla foglia che li ha generati, producendo nuove infezioni. Spesso si notano, come per l'olivo, infezioni in corrispondenza del picciolo della foglia e in tal caso si ha una caduta precoce delle foglie colpite. Un fatto che da un punto di vista biologico costituisce un dato probativo per distinguere questa specie dalle altre è la natura anfigena delle infezioni avvenute ad opera di questo fungo (Fig. 3).

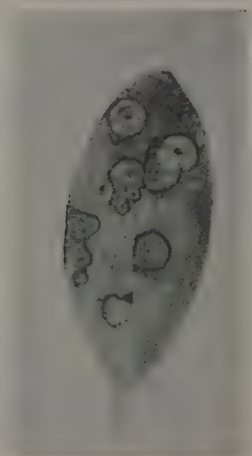


Fig. 3. Foglia di *Phillyrea variabilis* var. *latifolia* attaccata da *C. Phillyreae* sulla pagina inferiore.

A volte le infezioni in stadio avanzato sono visibili dalla pagina superiore fin sulla inferiore e viceversa. In tal caso però il parassita è già penetrato in tutti i tessuti sottostanti e li ha uccisi.

La Fig. 4 illustra un caso che può far incorrere in errore nella diagnosi grossolana della malattia. Si tratta di foglie di *Phillyrea* invase da larve di un insetto che, penetrato dalla pagina inferiore delle foglie, produce una sintomatologia simile a quella tipica del fungo parassita.



Fig. 4. — Foglie di *Phillyrea variabilis* var. angustifolia invase da larve di un insetto.

Come ho già accennato in precedenza il *C. Phillyreae* attacca indifferentemente tutte le varietà di *Ph. variabilis.*

Le nuove infezioni, più abbondanti in autunno, possono verificarsi con intensità e frequenza considerevole anche in primavera soprattutto nelle macchie particolarmente folte ed umide.

Le foglie possono essere colpite sia sulla pagina superiore che sulla inferiore con eguale intensità, ma mentre dopo breve tempo dall'inizio dell'infezione e soprattutto se interviene un periodo di freddo intenso, le giovani infezioni sulla pagina superiore ap-

paiono argentate, probabilmente per effetto del distacco della cuticola particolarmente spessa, sulla pagina inferiore le zone infette si mostrano talvolta brune e comunque sempre più scure. Si possono avere infezioni numerosissime su di una sola foglia. Il numero di infezioni raggiunge quello da me osservato in autunno su foglie di olivo molto colpite. Quando le infezioni sono abbondanti, come quando l'infezione colpisce il picciolo, la vita della foglia diventa molto breve. Sulle foglie con poche infezioni invece, si nota il formarsi di cerchi concentrici intorno alla zona centrale, e spesso anche un alone giallo tutt'intorno (Fig. 5), sintomatologia questa che ricorda molto da vicino le formazioni ad « occhio di pavone » dell'olivo.



Fig. 5. — Macchie ad « occhio di pavone » su foglia di *Phillyrea variabilis* var. *angustifolia*.

In corrispondenza delle macchie di questo tipo, con la pellicola al collodio si osserva l'avvenuta fruttificazione a cerchi concentrici, con presenza di conidiofori erompenti e conidi, in ordine preciso. In genere però la fruttificazione è, in questa specie, meno abbondante che in quella dell'olivo e del leccio. Le macchie ad

« occhio di pavone » sono più frequenti e più caratteristiche sulla pagine superiore e si ritrovano con maggiore facilità a primavera inoltrata.

Per lo studio morfologico dei conidiofori e dei conidi è molto utile anche in questo caso il metodo della pellicola di collodio. Si nota, sulle parti di foglia ammalate, la presenza di caratteristici conidiofori globosi, erompenti attraverso la cuticola, a parete spessa, portanti conidi più lunghi di quelli delle specie affini (μ 25 × 10,5 dimensioni modali), con dimensioni alquanto variabili, di solito con un solo setto ma a volte con due ed anche tre. I conidi tricellulari si dimostrano più frequenti che nelle specie affini. La cellula basale del conidio è arrotondata, la apicale piuttosto appuntita. A volte, a forte ingrandimento, è possibile notare, soprattutto sulla parete della cellula inferiore del conidio una natura echinulata appena percettibile. Il colore delle pareti di questi conidi è bruno, a volte leggermente giallastro, mentre il conidioforo appare in genere più scuro. La germinazione avviene in natura con una relativa facilità. In laboratorio si ottiene una germinazione abbastanza frequente su agar peptone. Il promicelio viene prodotto da ambedue le cellule del conidio. Di solito però la cellula apicale lo produce più facilmente.

Contrariamente a quanto si verifica per il *Cycloconium* del leccio in questa specie il micelio fertile non decorre di solito in superficie, ma come nel caso del parassita dell'olivo, ha decorso subcuticolare ed all'esterno si notano soltanto i caratteristici conidiofori globosi. Questi spesso oltre che esser prodotti in circolo si trovano raggruppati in numero di 8-10 o più. Abitualmente ogni conidioforo produce un solo conidio ed in alcuni casi i conidiofori globosi non appaiono prodotti direttamente dall'ifa rimanendo a questa aderenti come di solito si nota nel parassita del leccio, ma sono portati da un breve supporto a tronco di cono rovesciato. Mediante sezioni è possibile inoltre rilevare che nell'interno della foglia si trova un micelio per lo più sottile e ialino che decorre tra e dentro le cellule dei tessuti ancor vivi.

Il fungo si sviluppa in cultura su agar peptone; da conidi germinati ho ottenuto culture a lento accrescimento, tipiche del fungo e di un colore grigio scuro caratteristico.

Ricorderò inoltre per inciso che ho ottenuto più facilmente culture da giovani infezioni autunnali che non da macchie a cerchi concentrici raccolte a primavera inoltrata. Su queste ultime ho osservato inoltre dei corpi stromatici erompenti attraverso la cu-

ticola, che ricordano molto da vicino alcune formazioni riscontrate su vecchie culture di *C. oleaginum*, isolato da foglie di olivo.

Infezioni sperimentali effettuate con sospensioni di conidi, secondo le modalità descritte per il *Cycloconium* del leccio, su foglie di giovani piantine di olivo delle varietà « leccio » e « frantoio », hanno dati risultati positivi.

Si sono determinate infezioni ben visibili ad un mese dall'inoculo, sotto forma di caratteristiche zone rotondeggianti (diam.mm 2 circa) giallastre, che col passare del tempo sono diventate brune con alone giallastro. Non è stato possibile, anche in questo caso, osservare conidi maturi del fungo, mentre si è notata penetrazione del micelio tipico al di sotto della cuticola e tra le cellule di primo e secondo ordine del palizzata. In alcuni casi, con la pellicola di collodio è stato possibile osservare la presenza in superficie di corpi globosi che non hanno dato luogo a produzioni di sorta.

Il fungo è stato reisolato dai tessuti invasi e ha dato origine a colonie caratteristiche della specie.

Brevi cenni sulle caratteristiche biologiche e morfologiche di *Cycloconium phillyreae* Nicolas et Aggery ritrovato su foglie di *Ligustrum vulgare* L.

Come ho già accennato precedentemente questo parassita si rinviene molto raramente su questa specie.

Le infezioni iniziali sono presenti tanto nel tardo autunno che a primavera inoltrata. È necessario comunque tener presente che in ogni caso questo parassita su *Ligustrum* è stato da me ritrovato in zone particolarmente umide. Le macchie fino ad oggi sono state osservate solamente sulla pagina superiore delle foglie.

Allo stadio iniziale dell'infezione si nota una zona circolare decolorata e giallastra che diventa poi rapidamente bruno rossastra mentre intorno spesso si forma un alone giallo chiaro, che sfuma nel verde dei tessuti circostanti sani.

Nel materiale ritrovato fino ad oggi ho notato che, a differenza di quanto accade su leccio e su *Phillyrea*, le macchie su ligustro non sono mai numerose sulla medesima foglia ; al massimo se ne rinvengono tre o quattro (Fig. 6). Le zone invase dal fungo

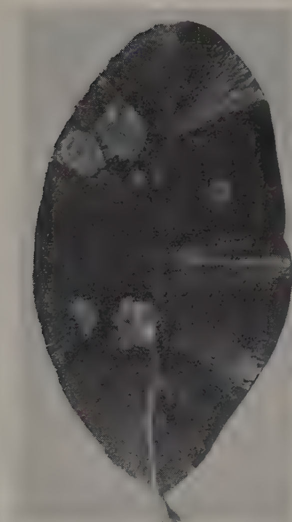


Fig. 6. — Foglia di ligustro con macchie di *Cycloconium Phillyreae*.

producono dopo qualche tempo una efflorescenza bruna-grigiastra che rende opaca la parte di foglia colpita. Questa efflorescenza è costituita in prevalenza da corpi globosi che erompono dalla cuticola e che corrispondono ai conidiofori del fungo. Si nota spesso che questi ultimi non producono conidi bicellulari, ma rimangono sterili. In rari casi si nota all'apice la formazione di un minuscolo corpicciolo che corrisponde probabilmente ad un conidio immaturo. I conidi sono a volte rari, di solito bicellulari (Fig. 7), raramente



Fig. 7. — Conidiofori e conidi di *Cycloconium Phillyreae* su foglia di ligustro.

tri- e tetracellulari. Hanno dimensioni abbastanza costanti, a differenza di quanto è stato riscontrato su *Phillyrea*, ma la forma e le dimensioni modali ricordano molto da vicino quelle di conidi di *C. Phillyreae*. La moda si aggira infatti intorno a μ 25 × 9. Ad una attenta osservazione ad ingrandimento considerevole si può osservare in alcuni casi la parete finemente echinulata dei conidi. Questa caratteristica non è costante, anzi, nel materiale da me esaminato piuttosto rara. I conidiofori appaiono in genere sempre più scuri dei conidi. La germinazione è molto difficile anche su agar peptone ; la temperatura migliore è quella intorno ai 18°C. I conidi germinano di solito emettendo un promicelio dalla cellula apicale. A volte si ha germinazione anche dalla cellula basale.

Il fungo si sviluppa in cultura, ma molto più difficilmente che nei casi descritti in precedenza. L'agar che dà migliori risultati è anche in questo caso l'agar peptone al quale sono state aggiunte tracce di cloruro di sodio. Le colonie ottenute mostrano un accrescimento lento e sono molto simili a quelle derivate da isolamenti effettuati con materiale proveniente da *Phillyrea*.

Tentativi sperimentali di inoculazioni effettuate con questo parassita, usando conidi in sospensione secondo le modalità già descritte, hanno dato su foglie di giovani piantine di olivo di varietà « frantoio » e « leccio », infezioni iniziali con zone decolorate circolari, caratteristiche.

Mentre però nell'autunno 1956 si è ottenuto un notevole attecchimento, le inoculazioni ripetute nella primavera seguente hanno dato risultati meno incoraggianti. Il micelio del fungo penetrava nell'interno della foglia per arrestarsi poi nel suo sviluppo. In nessun caso si è ottenuta fruttificazione, mentre il fungo è stato reisolato dai tessuti sottostanti alla cuticola.

RIASSUNTO. Nella presente nota si descrivono le caratteristiche biologiche e morfologiche di *Cycloconium Querci-Ilicis* (Peglion) Arnaud, parassita su foglie di leccio in Italia e quelle di *Cycloconium Phillyreae* Nicolas e Aggery. Quest'ultimo parassita è stato ritrovato su *Phillyrea variabilis* var. *angustifolia*, *media* e *latifolia* ed anche su *Ligustrum vulgare* L.

Infezioni sprimentali su foglie di giovani piantine di olivo effettuate con sospensioni di conidi di queste specie parassite hanno dato risultati positivi solamente nei primi stadî della malattia.

SUMMARY. In this work the biological and morphological characteristics of *Cycloconium Querci-Ilicis* (Peglion) Arnaud, parasite on holm-oak leaves in Italy and those of *Cycloconium Phillyreae* Nicolas et Aggery are

desribed. This last parasite has been found on *Phillyrea variabilis* var. *angustifolia*, *media* and *latifolia* L. and on *Ligustrum vulgare* L. The experimental infections on leaves of young olive-tees with conidia suspension of these parasite species made, have given positive results only at the beginning of the disease.

BIBLIOGRAFIA

ARNAUD G., Les Asterinees. « Ann. des Sciences naturelles i Botanique », VII, 643-725, 1925.

ARNAUD G., ARNAUD M., Traité de Pathologie végétale. Tomo I, Vol. II, 6 Ediz., pagg. 1831, Lechevalier, Parigi, 1931.

BOYER G., Recherches sur les maladies de l'olivier : le *Cycloconium oleaginum*. « Ann. Ecol. nat. Agr. Montpellier », VI, 248-255, 1891.

BUBAK F., Ein Beiträg zur Pilzflora von Tirol und Istrien. « Ann. Mycologici », XII, 205, 1914.

FERRARIS T., Trattato di Patologia e terapia vegetale. Vol. II, 4 Ediz., pagg. 1389, Hoepli, Milano 1941.

NICOLAS M. G., AGGERY, Un *Cycloconium* parasite de *Phillyrea angustifolia* L. « Bull. de la Soc. mycol. de France », XLIV, 301-303, 1928.

PEGLION V., Diagnosi di funghi parassiti nuovi. « Rivista di Pat. veg. », III, 10-13, 1896.

ID., Le malattie crittogamiche delle piante coltivate. 3 Ediz., pagg. 554, Cassone, Casale, 1912.

SACCARDO P. A., Sylloge. Vol. XI, pagg. 753, Typis Seminarii, Padova, 1895.

VIENNOT-BOURGIN, Les champignons parasites des plantes cultivées. Vol. II, 6 Ediz, pag. 1850, Masson, Parigi, 1949.

Anna Saponaro

OSSERVAZIONI E RICERCHE SU UNA PIANTA EMIPARASSITA: *BARTSIA TRIXAGO* L.

Nella famiglia delle Scrophulariaceae si rinvengono alcuni generi rappresentanti di quella forma intermedia di parassitismo che viene indicata come « emiparassitismo ». Tali sono ad esempio i generi Tozzia, Pedicularis, Melampyrum, Rhinanthus, Odontites, Euphrasia, Bartsia, i quali si raggruppano nella Sottofamiglia delle Rhinantheae.

Le piante emiparassite offrono quindi un esempio di adattamento graduale delle piante superiori alla vita eterotrofa, che giungerà a forme di parassitismo completo nella vicina famiglia delle Orobanchaceae. Analogo comportamento emiparassitario presentano i generi Thesium e Osyris della Famiglia delle Santalaceae.

Le Rhinantheae sono quasi sempre piante erbacee annuali e sono fornite di radici e di foglie verdi, perchè essendo piante a parassitismo parziale, la presenza di questi organi è indispensabile, anche se la loro funzionalità appare ridotta. Esse sono parassite rizofile in quanto il loro parassitismo si compie sulle radici della pianta ospite dalla quale assumono l'acqua e i sali minerali.

Come è stato riconosciuto da altri Autori e come si vedrà in seguito, la presenza dell'ospite non è indispensabile per la germinazione dei semi delle Rhinantheae, fatta eccezione per alcuni generi che hanno una forma di parassitismo più avanzata. La pianta emiparassita può iniziare infatti lo sviluppo completa nei suoi organi e solo successivamente si attaccherà alle radici di altre piante presenti nel terreno dalle quali, per mezzo di organi di assorbimento, trarrà le sostanze di alimento, assicurandosi in tal modo uno sviluppo vigoroso e completo.

I primi studi sulle Scrophulariaceae e Santalaceae emiparassite risalgono al secolo scorso. Infatti quando già da tempo si conosceva il parassitismo di altre Fanerogame, per le quali i

rapporti con l'ospite sono più evidenti, si ignorava ancora quel che avveniva nell'apparato radicale delle emiparassite, proprio perchè queste piante nella loro organografia non differiscono gran che dalle normali piante autotrofe.

Per quanto riguarda le Rhinantheae, come riferisce LECLERC DU SABLON (1887), fu DECAISNE che per primo, nel 1847, osservando la difficoltà di coltivare queste piante, pensò alla possibilità che esse fossero parassite. Infatti sulle radici egli rinvenne dei piccoli rigonfiamenti simili a quelli già segnalati da MITTEN per il genere *Thesium.*

Successivamente, sempre nello stesso secolo, l'argomento fu ancora trattato da altri AA. (SOLMS-LAUBACH 1868, LECLERC DU SABLON 1887, GRANEL 1889).

Dopo le prime ricerche, alle quali si devono la conoscenza di questa forma di parassitismo e le prime descrizioni anatomiche degli organi di assorbimento radicale, hanno fatto seguito gli studi di HEINRICHER (1910, 1921) su diversi generi di Scrophulariaceae (*Euphrasia*, *Odontites*, *Rhinanthus*, *Bartsia*, *Pedicularis*, *Melampyrum*, *Tozzia*, *Lathraea*, *Striga*).

Tra i lavori più recenti BREMER nel 1943 segnala gravi danni verificatisi nei campi di grano di Hatay (Turchia) per la presenza di una Scrophulariacea classificata come *Bartsia trixago L.* Egli rileva che le radici di questa pianta parassitano quelle del grano e, con prove in vaso, ottiene conferma di quanto ha osservato in natura : le piante di grano, se coltivate con *B. trixago*, hanno uno sviluppo limitato nei confronti di quelle coltivate da sole.

Analogamente MENDIZABAL (1946) indica come grave calamità delle colture cerealicole la presenza di *Thesium humile* Vahl., della Famiglia delle Santalaceae, che ha provocato seri danni in Spagna oltre che sulle graminacee attaccate, anche al bestiame nel quale ha determinato una forma di intossicazione. Il parassitismo delle Santalaceae, come quello delle Scrophulariaceae interessa l'apparato radicale dell'ospite e del parassita. L'A. parla infatti di succhiatoi di colore bianco che aderiscono alla radice del cereale, penetrando in essa sino alla regione legnosa per l'assorbimento dei liquidi nutritivi che sottraggono alla pianta ospite.

FERRARINI (1950) in un dettagliato studio sul parassitismo di *Osyris alba* L., descrive la formazione degli organi di assorbimento (austori) che si ha quando le radici della Santalacea vengono a contatto con quelle dell'ospite.

Un'altra Scrophulariacea che torna ad essere segnalata in studi recenti come dannosa alle colture dei cereali è *Striga lutea* Lour. Howard, Garris e Wells (1956) hanno rinvenuto questa pianta fra le colture di Zea Mays, nella Carolina del Nord. *Striga lutea* già conosciuta come parassita radicale del mais nel Sud Africa, è una pianta della flora orientale, e viene dai suddetti AA. segnalata per la prima volta nell'emisfero occidentale.

Gli AA. osservano che le piante di mais attaccate appaiono languenti e le loro radici sono state trovate imbrigliate con quelle di *Striga lutea*, la quale si attacca sull'ospite mediante numerosi appressori, cioè con la modalità tipica di queste Scrophulariaceae.

Sullo stesso genere ha compiuto ulteriori ricerche Nelson (1957) con esperienze sulla germinazione e sulla crescita di *Striga* e di alcuni ospiti.

Oggetto del presente studio è il genere Bartsia ed in particolare *Bartsia trixago* L. Tale specie è stata rinvenuta abbondantemente sul litorale del Lazio insieme a qualche esemplare di *Bartsia viscosa* L. In altra località della campagna laziale è stata trovata anche *Bartsia latifolia* S. et S.

B. trixago L. è una pianta annuale, semplice o raramente ramificata nella parte superiore, le foglie sono lanceolate e dentate di colore verde scuro. Raggiunge uno sviluppo medio di 50-60 cm. I fiori, disposti a racemo, hanno la corolla bianca con sfumature rosa. Il frutto (cassula) contiene semi che hanno solchi longitudinali e sono di colore giallo-bruno.

B. viscosa L., assai simile alla precedente, differisce per il colore dei fiori che sono a corolla gialla. Ha uno sviluppo leggermente inferiore (40-50 cm.). Il frutto (cassula) contiene semi reticolati e di colore giallo-bruno.

B. latifolia S. et S. raggiunge uno sviluppo minore (20 cm.). Il fiore è a corolla porporina, il frutto è una cassula con semi molto piccoli, di colore bruno scuro e reticolati.

Queste specie appartengono alla flora mediterranea; vi è inoltre la *B. alpina* L. segnalata negli studi di Heinricher (1910, 1921), che la rinvenne nei pascoli alpini della Germania. *B. alpina* è una specie perenne che ha un periodo di vita molto lungo, assicurato da gemme di rinnovamento che si formano sull'asse del germoglio e che annualmente riproducono la vegetazione.

La pianta fiorisce solo al quarto o quinto anno di vita, ed Heinricher rileva la difficoltà di coltivarla per le sue esigenze biologiche sopratutto ambientali.

Durante la stagione primaverile-estiva del 1956 rinvenni *B. trixago* su ampie distese prative naturali costituite da essenze varie (*Hedysarum*, *Trifolium*, *Medicago*, *Spartium*, *Poa*, *Festuca*, *Briza*, *Avena*, *Plantago*, *Hypericum*, *Aster*), con prevalenza di quelle appartenenti alle Famiglie delle Leguminosae e delle Graminaceae, e fra esse vegetava rigogliosamente *B. trixago* (fig. 1).



Fig. 1. — *Bartsia trixago* L. in fiore.

In questa zona ho prelevato più volte il materiale da osservare, asportando con il relativo pane di terra vari gruppi di piante fra le quali era compresa la Rinantea. Ho cercato poi di liberare dalla terra le radici delle piante, avendo cura di non alterare la loro posizione naturale, così da poter mettere in evidenza le eventuali anastomosi tra la emiparassita e la pianta ospite.

Numerosi furono i tentativi e solo pochi quelli che ebbero esito fortunato, poichè gli attacchi avvengono fra le sottili ramificazioni radicali dell'ospite e del parassita ed è molto facile provocare delle fratture.

Trovai alcuni casi di anastomosi nell'apparato radicale di *B. trixago* con i generi Plantago, Knautia, Trifolium, Medicago, Hedysarum, Poa e Festuca. La pianta non dimostrava alcuna partico-

lare attitudine nella scelta dell'ospite, poichè non ho rilevato la prevalenza numerica di un genere su di un altro.

La fig. 2 mostra un caso di anastomosi radicale tra *B. latifolia* S. et S. e *Plantago Psyllium* L.



Fig. 2. — *Bartsia latifolia* S. et S. e *Plantago Psyllium* L.

Le radici liberate dalla terra apparivano unite fra di loro; mediante l'osservazione con strumenti ottici ho potuto vedere che nel punto in cui la radice di *B. trixago* si attacca su quella dell'ospite vi è un ingrossamento, di forma ovaloide, che costituisce l'organo di assorbimento (austorio o succhiatoio). Nella fig. 3 vediamo alcuni casi di unioni radicali avvenute tra *B. trixago* L. e *Knautia* sp. Sono visibili gli ingrossamenti della radice parassita nel punto in cui prende contatto con l'ospite.

Questi attacchi avvenivano in più punti per cui ne risultava un fitto intreccio di radici, tra le quali era possibile identifi-

care quelle di *B. trixago*, più scure, le quali scorrevano fra le radici della pianta ospite, attaccandosi su questa, di tanto in tanto, mediante i suddetti organi di assorbimento.

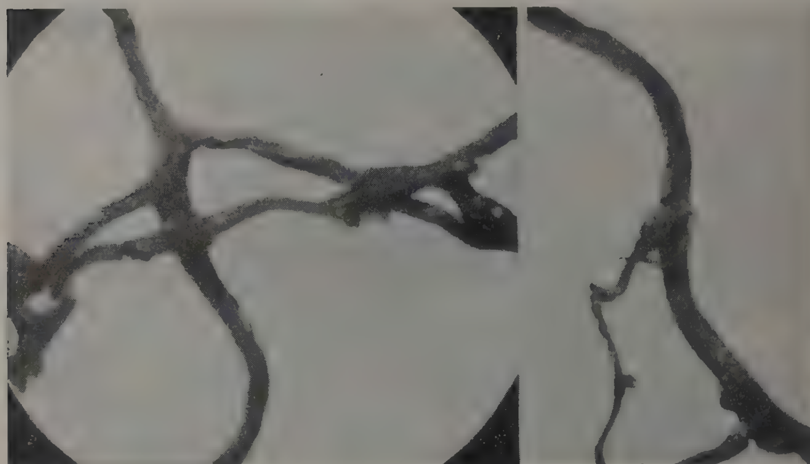


Fig. 3. — Due casi di anastomosi radicali tra *Bartsia trixago* L. e *Knautia* sp.

Per mezzo di questi organi la emiparassita si pone in contatto diretto con gli elementi vascolari della radice ospite per l'assorbimento dei liquidi nutritivi. I rapporti morfologici esitenti fra i due organismi risultano dalla disposizione dei tessuti messa in evidenza con sezioni trasversali fatte in corrispondenza degli ingrossamenti.

Nella fig. 4A sono visibili le due regioni vascolari dell'ospite e del parassita che sono venute a contatto, pur mantenendo ancora la loro individualità. Nella fig. 4 B il tessuto vascolare del parassita inizia a fondersi con quello dell'ospite, stabilendo in tal modo rapporti di continuità fra i tessuti. Ma, mentre i vasi legnosi della radice ospite appaiono morfologicamente ben definiti, quelli della radice parassita subiscono deformazioni nell'adattarsi sull'ospite.

Infine nella fig. 4C la fusione può considerarsi avvenuta e le due porzioni vascolari sono ancora individuabili per le loro caratteristiche morfologiche, che si manifestano specialmente con la irregolarità del tessuto legnoso della pianta parassita. In questo processo la porzione cribrosa non sembra intervenire, infatti la corteccia del succhiatoio si appoggia parzialmente sulla radice ospite, senza stabilire con essa rapporti di continuità.

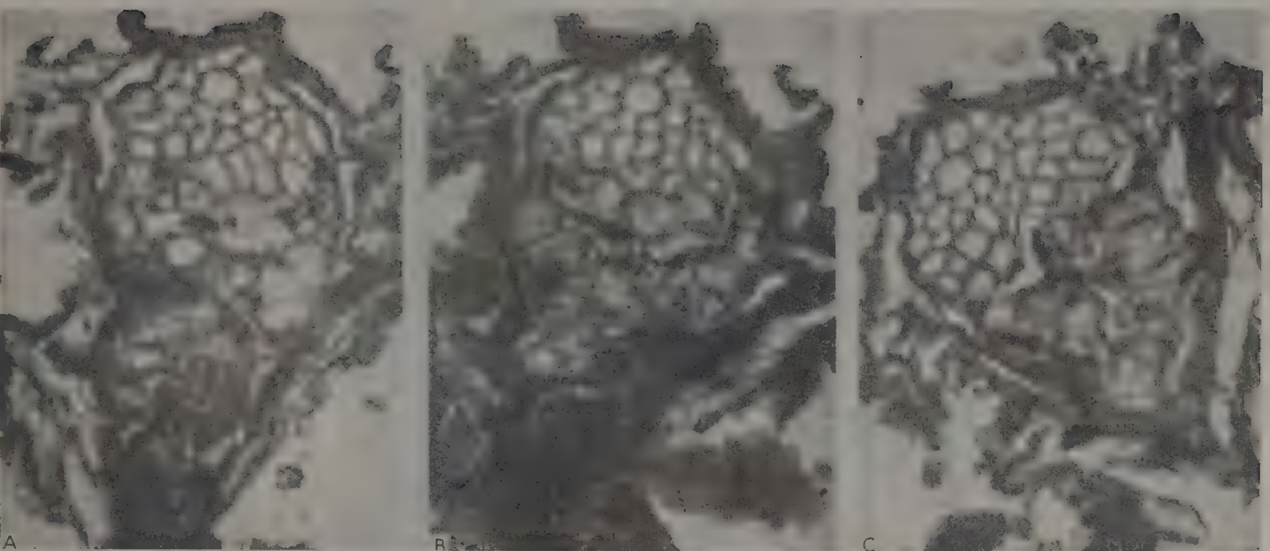


Fig. 4. — Sezioni trasversali condotte in tre punti successivi di un'anastomosi radicale fra *B. trixago* L. e *Knautia* sp.
A) tessuto legnoso dell'ospite (sopra) e dell'emiparassita (sotto) ancora distinti.
B) gli stessi in via di fusione.
C) i due tessuti anastomizzati.

Parte sperimentale.

Prove di germinazione. — La germinazione dei semi di Bartsia, necessaria per le prove che mi proponevo di fare, ha presentato notevoli difficoltà. I semi di *B. trixago,* raccolti nell'estate del 1956, hanno germinato, dopo ripetute prove, nel mese di dicembre dello stesso anno. Trascorso questo necessario periodo di maturazione, i semi, posti su carta da filtro umida, hanno germinato dopo dieci giorni, alla temperatura ottimale di 18°-20°C. Al di sopra di questa temperatura la germinazione non ha avuto luogo.

Per i semi di *B. trixago*, *B. viscosa* e *B. latifolia*, raccolti nell'estate successiv (1957), non essendo ancora trascorso il ne nessario periodo di maturazione, ho ottenuto la germinazione sottoponendoli a variazioni di temperatura. Cioè ho tenuto i semi alla temperatura di 18°C. per dieci giorni circa, e successivamente alla temperatura di 0°C. per lo stesso numero di giorni, oppure ho alternato giornalmente la permanenza dei semi nelle due temperature suddette.

Dopo venti giorni circa che i semi delle tre specie sopraindicate erano stati sottoposti all'uno o all'altro metodo di alternanza di temperatura, essi venivano posti di nuovo a 18°C., su carta da filtro umida, e germinavano dopo dieci giorni (fig. 5a, b, c).

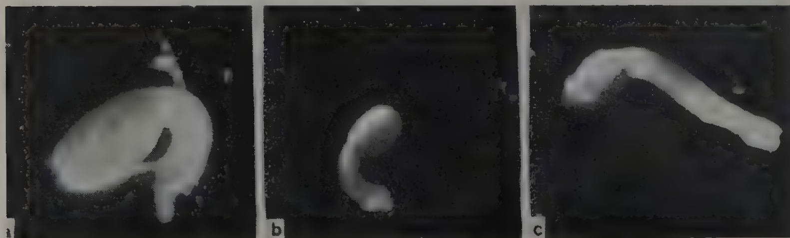


Fig. 5. — Semi di *Bartsia trixago* L. (a), *Bartsia viscosa* L. (b) e *Bartsia latifolia* S. et S. (c) in germinazione.

È risultato in tal modo che i semi di *B. trixago*, *B. viscosa* e *B. latifolia* germinano dopo dieci giorni su carta da filtro umida alla temperatura di 18°C., se è trascorso il periodo di maturazione dalla raccolta (5 o 6 mesi). Si può ottenere la germinazione prima sottoponendo i semi a variazioni di temperatura.

Anche Bremer (1943) non ebbe subito la germinazione dei semi di *B. trixago* ed ha osservato che essa è strettamente legata

al fattore temperatura. Egli riporta come « optimum » per la germinazione la temperatura al di sotto di 20°C.

Nelson (1957) ha rilevato anche per il genere Striga la necessità di un lungo periodo di quiescenza (18 mesi) per ottenere una buona germinazione dei semi ed indica una temperatura ottimale più alta (32°C.).

Prove di sintesi radicale. — Per queste ricerche ho usato i semi di *B. trixago*, dato che le altre due specie, essendo di più recente raccolta, richiedevano troppo tempo per la germinazione. Ho effettuato alcune serie di semine in capsula secondo le modalità già dette, ponendo a germinare insieme con *B. trixago* i semi di alcune piante che potevano fungere da ospite. Lo scopo di queste prove è stato quello di seguire dall'inizio lo sviluppo della radichetta della emiparassita per vedere il suo comportamento in presenza dell'ospite.

Dai semi di *B. trixago* si sviluppano le plantule formate da due foglioline verdi, fusticino e radichetta, ed in presenza delle altre radici fra esse decorrenti, ho osservato che, in molti casi, la radichetta della emiparassita si avvicina e si attacca a quella dell'ospite.

Riporto qui di seguito l'elenco delle piante provate come ospiti e con le quali è avvenuta la sintesi sperimentale :

1) *Triticum durum* Desf.
2) *Hordeum vulgare* L.
3) *Zea Mays* L.
4) *Avena sativa* L.
5) *Secale cereale* L.
6) *Aegylops ovata* L.
7) *Phleum pratense* L.
8) *Poa trivialis* L.
9) *Poa pratensis* L.
10) *Festuca elatior* L.
11) *Lolium perenne* L.
12) *Agrostis alba* L.
13) *Hedysarum coronarium* L.
14) *Lotus corniculatus* L.
15) *Medicago lupulina* L.
16) *Trifolium pratense* L.
17) *Trifolium hybridum* L.
18) *Vicia* sp.
19) *Medicago sativa* L.
20) *Brassica* sp.

Un caso interessante ho osservato nella prova con piantine di grano : dopo dieci giorni circa dalla semina di *B. trixago*, quando cioè iniziava la germinazione, ho posto nella stessa capsula alcune cariossidi di grano e ho seguito lo sviluppo di ambedue. Dopo 20 giorni, per così dire di convivenza, potevo osservare l'inizio di anastomosi ; come si vede nella fig. 6A la piccola pianta di *B. trixago*, in questo caso, si sviluppa parallelamente alla radice di grano e, proprio all'inizio della porzione radicale, essa si accosta

all'ospite, al quale sembra attaccarsi più in alto, mediante l'estremità radicale che si piega ad uncino intorno alla radice di grano.

Nel particolare della fig. 6B si vede un leggero ingrossamento della radice della emiparassita in corrispondenza della piegatura ad uncino, dal quale si sono successivamente prodotti dei peli. Essi appaiono piuttosto rigidi e sembra vadano a saldarsi sulla radichetta di grano.

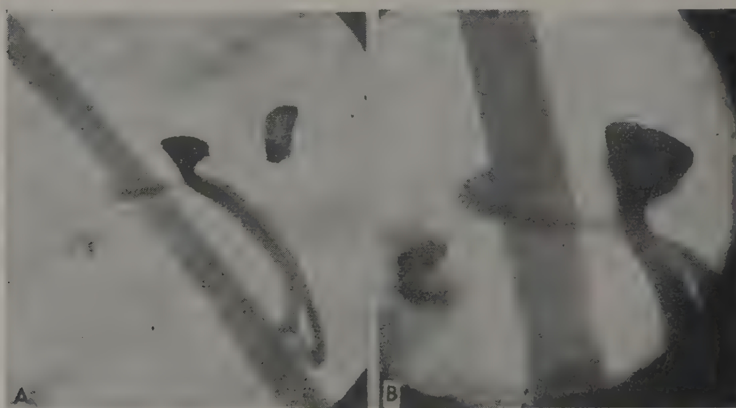


Fig. 6. — Sintesi radicale ottenuta tra *Bartsia trixago* L. e grano.
A) la radichetta che si attacca sull'ospite.
B) particolare del punto di attacco con produzione di peli radicali.

Un altro caso interessante è mostrato nella fig. 7A : la radichetta di *B. trixago*, nel punto in cui si appoggia su quella di grano, è visibilmente ingrossata, e anche qui in corrispondenza dell'ingrossamento vi è stata una notevole produzione di peli radicali che si protendono verso la radice di grano sottostante (fig. 7B).

La formazione dei peli radicali nella zona di contatto fra i due organismi ritengo debba essere presa in considerazione. Mi riferisco alle prime ricerche e precisamente alle descrizioni dei succhiatoi (suçoirs) delle Rhinantheae fatte da Leclerc du Sablon (1887).

Questo A., parlando dei generi Melampyrum, Rhinanthus, Pedicularis e altri, dà molta importanza, durante la formazione del succhiatoio, alle cellule dell'assise pilifera. Anche se le sue descrizioni non sono sempre del tutto chiare, egli sembra attribuire a queste cellule la funzione di assorbimento dalla pianta ospite.

Cioè, secondo quanto egli ha osservato, mentre entrano in divisione gli elementi corticali che danno inizio all'ingrossamento,

sono le cellule dell'assise pilifera, a contatto con la radice ospite, che si allungano, si dividono e penetrano nei tessuti, dando così origine alle cellule assorbenti che assumono i succhi nutritivi dai vasi del legno e, per mezzo di elementi spiralati che si sono differenziati nel tessuto del succhiatoio, li trasmettono al sistema vascolare del parassita.

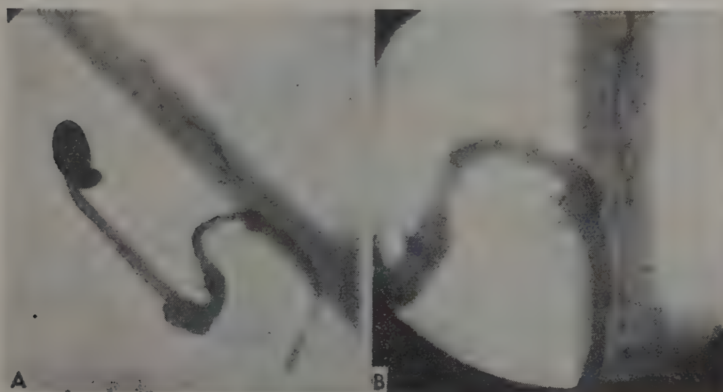


Fig. 7. — Un altro caso di sintesi radicale tra *Bartsia trixago* L. e grano.
A) la radichetta si attacca all'ospite mediante un ingrossamento.
B) particolare che mostra la produzione di peli radicali in corrispondenza dell'ingrossamento.

Leclerc du Sablon è portato a ritenere che in queste Rhinantheae la produzione dei peli assorbenti sia limitata alla zona del succhiatoio, tanto più che egli difficilmente li ha osservati sulle giovani radichette. L'A. ritiene pertanto che la funzione di assorbimento, che normalmente è distribuita su gran parte della radice, è in queste piante localizzata nei succhiatoi; tuttavia egli fa delle riserve, volendosi riferire solamente al materiale da lui studiato.

In base alle osservazioni compiute, pur non potendo affermare che la radice di *B. trixago* produce peli solo in corrispondenza dell'organo di assorbimento, posso dire che nella maggioranza dei casi la produzione dei peli assorbenti è scarsa. Infatti nelle prove di germinazione solo qualche volta la plantula presentava i peli assorbenti nella regione radicale, mentre il più delle volte ne era sprovvista.

Il caso indicato precedentemente dimostra altresì che il contatto tra la radice di *B. trixago* e la radice di grano ha stimolato



Fig. 8. — Alcuni casi di sintesi radicale con ospiti vari.
A) *Bartsia trixago* L. su *Medicago lupulina* L.
B) *Bartsia trixago* L. su *Hedysarum coronarium* L.
C) *Bartsia trixago* L. su *Vicia* sp.

nella prima una particolare produzione di peli radicali proprio nella zona di contatto.

Considerando la parziale attitudine parassitaria di queste piante, si può pensare che la formazione dei peli radicali e quindi la funzione assorbente della radice sia in relazione con le condizioni di vita in cui la pianta stessa si viene a trovare. In altre parole la emiparassita, avendo a disposizione un ospite, potrebbe ricevere uno stimolo particolare per la sua funzione di assorbimento, proprio nella zona in cui con l'ospite si mette in contatto, laddove, crescendo isolatamente, la pianta ha la necessità e la possibilità, forse in misura ridotta, di assumere ugualmente il nutrimento dal mezzo ambiente provvedendo in tal modo alle prime esigenze vitali.

Infatti noi sappiamo che queste emiparassite iniziano la loro vita anche in assenza dell'ospite. Questo interessante problema, che è emerso a seguito delle ricerche compiute sino ad ora, sarà oggetto di ulteriori indagini.

Per quanto riguarda la sintesi radicale ottenuta con le altre specie suindicate ho usato lo stesso criterio di semina e di osservazione, facendo in modo che *B. trixago* e l'ospite iniziassero insieme, o quasi, il loro sviluppo. Ho ottenuto così molti casi di attacchi radicali, anche se non sempre tipici come quelli avuti con il grano (fig. 8A, B, C).

Nell'estate del 1957, grazie alla cortese segnalazione fattami dal Prof. Draghetti, che qui ringrazio sentitamente, ho trovato *Rhinanthus Alectorolophus* Pollich nella campagna modenese. Questa pianta, emiparassita della Sottofamiglia delle Rhinantheae, vegeta in prati associata con essenze varie (*Vicia*, *Anthyllis*, *Medicago*, *Trifolium*, *Lotus*, *Plantago*, *Galium* ecc.), (*), similmente al genere Bartsia. Non ho ancora ottenuto la germinazione dei semi di *Rhinanthus Alectorolophus* provata con gli stessi metodi usati per il genere Bartsia.

Riassunto. Si riportano i risultati di osservazioni compiute sull'apparato radicale di una pianta emiparassita: *Bartsia trixago* L. Sono state osservate zone di attacco con alcune piante ospiti, in corrispondenza delle quali si formano gli organi di assorbimento radicale della emiparassita, e sono stati osservati i rapporti morfologici fra i tessuti delle due piante in corrispondenza dei suddetti organi.

(*) Ringrazio vivamente il Dott. Diego Pasquini, della Stazione sperimentale agraria di Modena, che mi è stato di valido aiuto per la sua precisa conoscenza della flora locale.

Sono state compiute prove sulla germinazione dei semi ed inoltre è stata ottenuta sperimentalmente la sintesi radicale tra *B. trixago* e alcune piante prese come ospiti.

SUMMARY. The results of observations made on the roots of one hemiparasite plant, *Bartsia trixago* L., are reported. Several attachments to the « host plants » are noticed, where haustoria are formed, and morphological relations between the tissues of the two plants have been observed, in corrispondence with the above mentioned organs.

Tests are made on the seed germination and the radical attachments between *B. trixago* and some plants used as « hosts » have been also obtained by experiments.

BIBLIOGRAFIA

BREMER H., *Bartschia trixago* als Weizenparasit. « Bitki Koruma Bulteni. Bulletin of Plant Protection », 5, 15-19, 1953.

FERRARINI E., il parassitismo di *Osyris alba* L. « Nuovo Giornale Botanico Italiano », N. S., LVII, n. 3, 351-381, 1950.

FIORI A., Nuova Flora analitica d'Italia. Vol. II, pagg. 1120. Tipografia di M. Ricci, Firenze 1925-1929.

GRANEL M., Note sur l'origine des suçoirs de quelques Phanerogames parasites. « Bull. Soc. Botanique », XXXIV, 313-321, 1887.

ID., Recherches sur l'origine des suçoirs de Phanerogames parasites. « Journal de Botanique », III, 149-153, 1889.

HEINRICHER E., Die Aufzucht und Kultur der Parasitischen Samenpflanzen. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1910.

ID., Methoden der Aufzucht und Kultur der Parasitischen Samenpflanzen. « Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden », Abt. XI, Teil 2, Heft 2, 237-350, 1921.

HOWARD R., GARRIS e J. C. WELLS, Parasitic herbaceous annual associated with corn disease in North Carolina. « Plant disease Reporter », XL, n. 10, 837-839, 1956.

LECLERC DU SABLON M., Recherches sur les organes d'absorption des plantes parasites (Rhinanthèes et Santalacèes). « Ann. Sciences naturelles », ser. VII, 6, 90-115, 1887.

ID., Observations anatomiques sur la structure et le developpement des suçoirs du *Melampyrum pratense* L. « Bull. Soc. Botanique », XXXIV, 154-160, 1887.

MENDIZABAL M., *Thesium humile* Vahl., Santalacea parasita de los cultivos y toxica para el ganado. « Boletin de Patologia Vegetal y Entomologia Agricola », XIV, 309-314, 1946.

NELSON R. R., Preliminary studies on the *Striga* parasitic weed of corn. « Plant disease Reporter », XLI, n. 5, 377-383, 1957.

SOLMS-LAUBACH H., Ueber den Bau und die Entwicklung der Ernährungsorgane parasitischer Phanerogamen. « Jahrbüecher für wissenschaftliche Botanik », VI, 509-632, 1868.

Renato Verneau e Mario Rosa

PRIME PROVE DI LOTTA IN PIENO CAMPO CONTRO LA « VAIOLATURA BATTERICA » DELL'ALBICOCCO, CON UN PREPARATO A BASE DI STREPTOMICINA E TERRAMICINA

Da oltre un decennio, com'è noto, l'attenzione degli Studiosi è stata richiamata dalla possibilità di estendere l'applicazione delle sostanze antibiotiche nella lotta contro le malattie delle piante ; e la letteratura già annovera in proposito gran copia di ricerche (si veda ad esempio Darpoux, 1954).

In un primo momento la disponibilità di sostanze ad azione esclusivamente antibatterica orientò gli studi e le ricerche verso alcune più importanti malattie batteriche delle piante ; e la penicellina, ottenuta in laboratorio sottoforma di filtrati greggi da colture di *Penicillium* sp. o in preparazioni commerciali, fu perciò il primo antibiotico ad essere sperimentato. Oggi però il campo di applicazione si è molto allargato, soprattutto perchè altri antibiotici, come la Streptomicina, l'Actidione, l'Elixina, l'Endomicina, la Toximicina, l'Antimicina e la Griseofulvina, tutti ad azione antimicotica oltre che antibatterica, hanno attratto l'interesse dei Ricercatori per le possibilità che offrono nel ben più importante settore delle malattie crittogamiche delle piante.

Brown e Boyle (1944) saggiarono un filtrato, contenente penicellina, su colture di *Erwinia carnegieana* Standring, agente di una « necrosi » del Cactus gigante, e più tardi (1944 a) su piante di *Bryophyllum pinnatum* presentanti tumori da *Phytomonas tumefaciens* (E.F. Sm. et Towns.) Bergey et Al. ; con queste applicazioni gli Autori misero in evidenza le proprietà battericide dell'antibiotico verso i due microrganismi e dimostrarono altresì che esso possiede anche un'azione necrotica diretta sulle cellule tumorali.

Molte altre applicazini seguirono, fra le quali si ricordano quelle di Darpoux e Faivre-Amiot (1950) che riuscirono, a mezzo di trattamenti locali con batuffoli di cotone imbevuti di un filtrato bruto da colture di *Penicillium claviforme*, ad eliminare completamente tumori da *Phytomonas tumefaciens* su piante di Pomodoro. Ed i saggi « in vitro » di Rudolph (1946) contro

Erwinia amylovora (Burril) Bergey, agente del « seccume batterico » (fire-blight) del Melo e del Pero, e contro *Xanthomonas junglandis* (Pierce) Dowson, responsabile della « batteriosi del Noce » (Walnut blight); contro tali microrganismi soluzioni di penicellina pura mostrarono proprietà batteriostatiche e battericide. Ma le successive prove eseguite « in vivo » su rami di Pero e di Noce, affetti dalle rispettive suddette batteriosi, dettero esito completamente negativo.

Migliori risultati pratici otteneva invece Boyle (1949) nel tentativo di curare direttamente sulle piante, con penicellina commerciale, la ricordata « necrosi batterica » del Cactus gigante: il preparato, iniettato al centro di ogni lesione, mostrava di diffondersi attraverso i tessuti circostanti e di eliminare il batterio responsabile dell'alterazione.

In questi ed in altri tentativi, le sostanze contenenti penicellina mostrarono quasi sempre un'azione troppo transitoria; è probabile che l'antibiotico, oltre ad essere non del tutto assorbito e scarsamente translocato attraverso i tessuti, si alteri e perda ben presto le sue caratteristiche nel complesso biochimismo dei tessuti stessi. Inoltre la sua attività, spiccata contro i microrganismi Gram-positivi, sembra del tutto insufficiente verso quelli Gram-negativi fra i quali, com'è noto, è da annoverare la maggior parte degli agenti determinanti le malattie batteriche delle piante.

Purtuttavia gli studi eseguiti sulle applicazioni della penicellina indicarono che sostanze di tale natura, oltre a possedere proprietà batteriostatiche e battericide contro i microrganismi fitopatogeni, lasciavano intravedere la possibilità di una loro azione endoterapica anche negli esseri vegetali.

In tal senso le successive ricerche furono in un certo qualmodo favorite dalla più abbondante disponibilità di antibiotici, le cui industrie nel frattempo si erano perfezionate e potevano produrre queste sostanze a prezzi tali da non ritenere economicamente impossibile la loro eventuale applicazione nel settore delle malattie delle piante. Difatti la Streptomicina, a più largo spettro d'azione e prodotta su vasta scala, fu presa subito in considerazione e si può affermare che a tutt'oggi è l'antibiotico sottoposto a più ampie prove ed a maggiori applicazioni pratiche nella lotta contro le malattie batteriche delle piante.

Streptomicina impura preparata in laboratorio e streptomicina cristallizzata furono adoperate da Brown e Hepp (1946) per

trattare pezzi di rametti di Susino infetti da *Xanthomonas pruni* (Smith) Dowson ; dalle gemme di tali rametti svilupparono successivamente foglie sane, mentre da quelle dei rametti non trattati svilupparono foglie infette ; i germogli inoltre non mostrarono danni da fitotossicità. Ark (1947) metteva poi in evidenza il potere tossico della streptomicina nei riguardi di alcuni batteri fitopatogeni : semi di Cetriolo inoculati con *Pseudomonas lachrymans* (E. F. Sm. et Bryan) Bergey et Al. furono successivamente trattati per 20 minuti con una soluzione di streptomicina a 100 U. per ml. e quindi seminati ; le piante nate non mostrarono sintomi della batteriosi. Allo stesso modo, pezzi di patata e carota bagnati il giorno prima in una soluzione di streptomicina ed inoculati con *Erwinia carotovora* (L. R. Jones) Holland, non subirono in seguito il « marciume molle » (soft-rot).

Così Brown (1948) metteva in rilievo l'azione della streptomicina, oltre a quella della penicellina, sulle cellule tumorali da *Agrobacterium tumefaciens* e sullo stesso batterio. E Hampton (1948), con applicazioni locali di cotone imbevuto di streptomicina, curava tumori batterici su molte piante erbacee ed arboree. Anche De Ropp (1948, 1949) dedicava particolari ricerche alla azione della streptomicina sui tumori batterici delle piante, mettendone in rilievo la più energica azione, rispetto alla penicellina, verso l'agente batterico piuttosto che contro l'accrescimento delle cellule tumorali.

Il potere inibitorio della streptomicina sullo sviluppo di *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* (Burk.) Stapp et Kotte, agente della « maculatura grassa » (halo blight) del Fagiolo, fu studiato da Smith W. L. (1949) che riuscì ad eliminare totalmente la comparsa della batteriosi trattando i semi in una soluzione di solfato di streptomicina all'1% per 15 minuti ; risultati buoni contro lo stesso patogeno e con trattamento preventivo del seme ottennero Hildreth e Starr (1950), specialmente con solfato di streptomicina e con Neomicina ; ed anche Burke (1949) con streptomicina. Purtuttavia Starr e Coll. (1951), in prove di pieno campo, trovarono che il trattamento preventivo del seme con streptomicina all'1% determinava una forte riduzione nella germinazione del seme stesso ; inconveniente che riuscirono purtuttavia a superare con un particolare accorgimento.

Le prove più interessanti però, eseguite con streptomicina contro *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* e contro *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Sm.) Dowson, agente quest'ultimo del-

l'« avvizzimento comune » (common blight) del Fagiolo, furono eseguite da MITCHELL e Coll. (1952), i quali per primi riuscirono a dimostrare che il solfato di streptomicina poteva essere assorbito dai tessuti degli steli delle piantine di Fagiolo e translocato verso le foglie primarie, nelle quali, dopo tre o quattro giorni, l'antibiotico si accumulava in quantità tale da prevenire o inibire lo sviluppo dei due microrganismi agenti della « maculatura grassa » e dell'« avvizzimento comune » del Fagiolo. Una settimana dopo l'applicazione del solfato di streptomicina agli steli delle piantine di Fagiolo, una sufficiente quantità dell'antibiotico era stata assorbita e translocata alle prime ed alle seconde tre foglie per eliminare le infezioni di *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola*. Era questa la prima chiara dimostrazione della sistematicità della streptomicina, confermata del resto sperimentalmente anche da PRAMER (1953) su piantine di Cocomero, nelle quali il solfato di streptomicina, assorbito per via radicale, potè essere rinvenuto nelle foglie. Contro la stessa batteriosi prove in pieno campo eseguite da ZAUMEYER e Coll. (1953), riconfermarono la validità del solfato di streptomicina in soluzione acquosa allo 0,1% nell'abbassare o ridurre a valori insignificanti, a seconda del numero delle applicazioni, le infezioni del microrganismo.

Però, le più importanti applicazioni della streptomicina, anche dal punto di vista eminentemente pratico, sono state forse effettuate in America contro una dannosissima batteriosi del Melo e del Pero : il « seccume batterico » (fire-blight) delle Pomacee, indotto da *Erwinia amylovora* (Burril) Bergey.

Già MURNEEK (1952) era riuscito ad abbassare del 50%, mediante una sola irrorazione di Streptomicina o di Tiolutina, le infezioni di *Erwinia amylovora* su Meli della varietà « Jonathan » particolarmente suscettibile. Prove più significative in pieno campo, su Meli var. « Starr », furono condotte da HEUBERGER e POULOS (1953) i quali, in relazione alla biologia del patogeno, eseguirono 5 trattamenti con solfato di streptomicina in soluzione acquosa a 120, 60 e 30 p.p.m., praticandoli durante il periodo della fioritura. Tali trattamenti ridussero di oltre il 50% l'entità delle infezioni, senza peraltro provocare effetti fitotossici sui fiori e sui frutti.

Oltre che streptomicina in soluzione a 120 e 60 p.p.m., WINTER e YOUNG (1953) presero in considerazione anche la Terramicina (ossitetraciclina) alle stesse diluizioni ; in prove condotte in serra su Meli var. «Jonathan» confermarono la piena effi-

cacia della streptomicina nel prevenire le infezioni di *Erwinia amylovora*; anche la Terramicina dette buoni risultati, ma soprattutto gli Autori notarono che l'una e l'altra furono assorbite e translocate nei tessuti in quantità sufficienti per conferire alle piante una immunità temporanea verso l'agente batterico del fire-blight.

Si deve purtuttavia ad ARK (1953) la prima importante applicazione della streptomicina in prove di campagna eseguite in California. L'antibiotico fu formulato con polvere di bentonite, nella proporzione di 240 p.p.m., e con esso furono trattate 302 piante di Pero var. «Bartlett»; altre 300 piante furono trattate con un prodotto polverulento a base di rame, mentre due blocchi di 290 e 264 piante, non trattati, rimasero come controllo. Quattro applicazioni di streptomicina, eseguite durante il periodo della fioritura, non solo dettero buoni risultati contro *Erwinia amylovora*, ma non causarono nemmeno quei fenomeni da fitotossicità che si registrarono invece sui frutti delle piante trattate con il composto cuprico.

Interessante è anche l'osservazione di ENGLISH e VAN HALSEMA (1954) i quali dimostrarono che «in vitro» la insorgenza di ceppi streptomicin-resistenti di *Erwinia amylovora* e *Xanthomonas vesicatoria* viene considerevolmente ritardata se i due microrganismi, invece di essere esposti all'azione di dosi crescenti di sola streptomicina, siano viceversa sottoposti all'azione di dosi crescenti di una miscela di streptomicina e terramicina. Il fenomeno non era nuovo, perchè già si sapeva che la resistenza di molti microrganismi patogeni dell'uomo ad un determinato antibiotico può essere ritardata con l'uso dello stesso antibiotico in miscela con un altro; ma dal punto di vista fitopatologico alcuni Ricercatori, come GARBER e Coll. (1954), partendo dalla constatazione che durante tre anni di prove in pieno campo mai si erano registrate insorgenze di ceppi resistenti alla streptomicina, minimizzarono la portata pratica del fenomeno stesso.

Purtuttavia in successive prove di lotta in pieno campo contro *Erwinia amylovora* fu adoperata una nuova formulazione della Casa Pfizer, denominata Agrimycin, in polvere bagnabile, contenente il 15% di streptomicina e l'1,5% di terramicina. Con due irrorazioni di tale prodotto, eseguite all'inizio e dopo la fioritura su 115 piante di Melo, KIRBY (1954) ottenne in Pennsylvania ottimi risultati contro *Erwinia amylovora*, le cui infezioni furono contenute in percentuali insignificanti.

Una completa e vasta sperimentazione, eseguita in California su 600 piante di Pero var. «Bartlet», si deve a DUNEGAN e Coll. (1954), sempre contro il fire-blight. La stessa formulazione di streptomicina e terramicina fu adoperata a tre concentrazioni diverse (100, 60 e 30 p.p.m.) ; fu presa inoltre in considerazione una miscela costituita dai due suddetti antibiotici (a 30 p.p.m.) e Zineb al 2% ed infine solfato di rame all'1%. La sperimentazione rese possibile una interessante analisi fra la efficacia del prodotto antibiotico e quella del solfato di rame, in relazione alle diverse concentrazioni, al numero delle applicazioni, agli intervalli fra le applicazioni e agli effetti fitotossici provocati sui fiori e sui frutti. Le conclusioni di tale analisi misero in evidenza che 5 trattamenti con il preparato antibiotico a 30 p.p.m., il primo applicato all'inizio dell'apertura dei fiori e gli altri quattro intervallati ognuno di 7 giorni, ebbero la stessa efficacia del solfato di rame all'1% applicato con lo stesso calendario ; mentre però il composto cuprico determinò sui fiori e sui frutti considerevoli danni da fitotossicità, il preparato antibiotico non indusse invece sulle piante tali inconvenienti.

Anche GOODMAN (1954) riporta gli ottimi risultati ottenuti in frutteti di diverse località del Missouri con Agrimycin nella lotta contro *Erwinia amylovora* su Meli var. «Jonathan». Il prodotto fu adoperato a 25, 50 e 100 p.p.m. ed il numero dei trattamenti, per ogni singola concentrazione, variò da due a quattro. L'uso del prodotto ridusse considerevolmente le infezioni, in modo particolare alle concentrazioni di 50 e 100 p.p.m., in 3 o in 4 applicazioni, fra le quali anzi non vi furono differenze significative di efficacia ; le piante trattate con queste ultime concentrazioni rimasero difese per 30 giorni anche dalle infezioni secondarie. Non si verificarono danni da fitotossicità nè sui fiori nè sui frutti, mentre sulle foglie, con le irrorazioni a 100 p.p.m., si ebbero leggere clorosi marginali del tutto transitorie.

Ulteriori prove condussero CLAYTON (1955) nella Carolina del Nord e KIENHOLZ (1955) nell'Oregon con Agrimycin ed altri prodotti a base di streptomicina contro *Erwinia amylovora* rispettivamente del Melo e del Pero ; anche per questi Autori i risultati furono del tutto incoraggianti.

Sono infine da ricordare, specialmente ai fini del presente lavoro, i tentativi di lotta condotti in pieno campo da GOODMAN e SHEPARD (1956) nel Missouri contro *Xanthomonas pruni* (Smith) Dowson, agente della « maculatura batterica » del Susino e del

Pesco. Le prove furono effettuate su varietà di Pesco particolarmente sensibili alla batteriosi, con streptomicina e con Agrimycin. I migliori risultati (riduzione delle maculature sulle foglie ed abbassamento della defogliazione) si ottennero quando il primo trattamento fu effettuato 4 settimane dopo la fioritura e quando i 6 trattamenti successivi, distanziati di non meno di 7 giorni, poterono essere operati ognuno dopo un periodo piovoso.

Queste ed altre sperimentazioni sulla lotta contro *Erwinia amylovora* hanno avuto subito conseguenze di ordine pratico presso la frutticoltura americana; talchè questa grave malattia del Melo e del Pero va sempre di più contenuta con l'uso di prodotti aventi a base la streptomicina. Ma lo stesso antibiotico viene normalmente consigliato anche contro altre malattie batteriche di piante erbacee, specialmente della Patata, del Pomodoro, del Tabacco e del Fagiolo. Ed oltre alla ricordata Agrimycin, sono già in commercio altre formulazioni, in polvere, polvere bagnabile e liquide, contenenti streptomicina.

Purtuttavia sembra ancora abbastanza lontana la generalizzazione dell'uso dei prodotti antibiotici in fitoterapia; ed a tal proposito non si può non osservare che, malgrado le prove incoraggianti più sopra ricordate, resta ancora da appurare la precisa azione esplicata da tali sostanze sulle piante e sulla maggior parte dei microrganismi fitopatogeni; ma soprattutto sono ancora da precisare quali sono le condizioni che in pratica regolano tale azione. Per cui molto frequentemente, con uno stesso prodotto, contro lo stesso patogeno e nello stesso ambiente si ottengono da un anno all'altro risultati nettamente contrastanti.

* * *

Nel 1955, per iniziativa del Direttore di questa Stazione e dopo che uno di noi (VERNEAU, 1954) aveva segnalato *Xanthomonas pruni* (Smith) Dowson come responsabile della « vaiolatura batterica » dell'Albicocco in provincia di Napoli, fu deciso di istituire, in collaborazione con il Laboratorio Sperimentale di Patologia Vegetale di Portici, alcune prove di lotta in pieno campo contro il patogeno suddetto nelle quali, in relazione a quanto risultava dalla letteratura più sopra ricordata, si volle prendere in considerazione il comportamento di una formulazione avente a base prodotti antibiotici.

In tal senso si approfittò del gentile intervento della Pfizer Corporation S.p.A., che mise a disposizione un sufficiente quantita-

tivo di Agrimycin-100 (*), di quello stesso preparato cioè ampiamente sperimentato, come si è visto, in molte località degli Stati Uniti d'America contro diverse malattie batteriche dei fruttiferi.

Sperimentazione del 1955.

Per causa di forza maggiore il prodotto Agrimycin-100 pervenne con notevole ritardo talchè, avvenuta da circa un mese l'allegagione ed essendo già in atto la malattia, si dovettero necessariamente ridurre i presupposti della sperimentazione. Perciò le applicazioni dell'antibiotico che si decise di effettuare sulle piante in piena fruttificazione, ebbero esclusivamente lo scopo di accertare l'azione del preparato sulla evoluzione e sulla diffusione delle lesioni batteriche dei frutti.

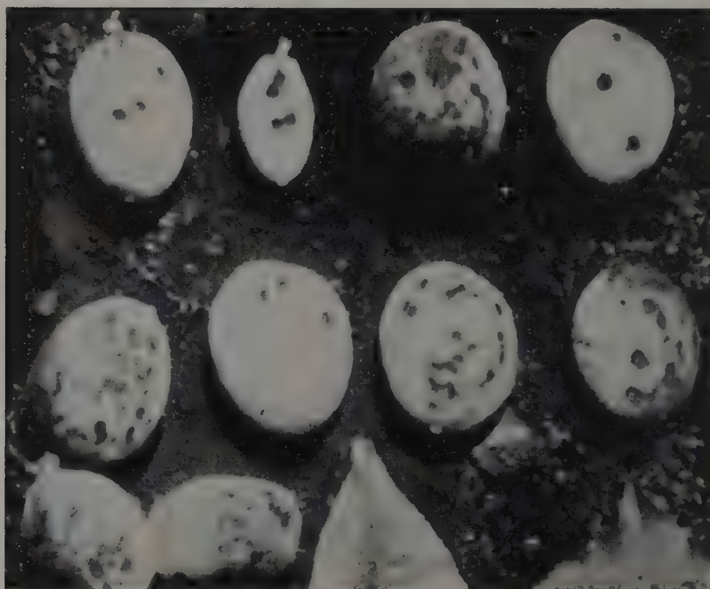


Fig. 1. — Tacche batteriche su frutti di Albicocco prodotte da *Xanthomonas pruni* (Smith) Dowson.

Le prove furono eseguite in località « Cavallo » del Comune di Somma Vesuviana (Napoli), ad un'altitudine di circa 500 metri.

(*) Alla Pfizer Corporation ed in particolare alla Dott.ssa Doda Ballardini si esprimono i più vivi ringraziamenti per la gentile collaborazione.

Nell'albicoccheto infetto si presero a caso 12 piante; di ogni pianta si contrassegnarono due branche risultanti sulla chioma diametralmente opposte. Il 6 Aprile per ogni branca contrassegnata si contarono i frutti sani e quelli infetti presenti su tutti i rami e subito dopo si operò la prima irrorazione con Agrimycin-100 in sospensione acquosa allo 0,07 %, pari a 100 p.p.m. di sostanza attiva. La irrorazione fu praticata su 8 piante, mentre le altre 4, non trattate, rimasero come controllo.

Le altre due irrorazioni, sempre alla stessa concentrazione, furono operate rispettivamente il 13 Aprile ed il 22 dello stesso mese.

Due giorni prima del 18 Giugno, della data cioè prestabilita per il secondo conteggio dei frutti sulle branche contrassegnate, sopravvenne nella zona un violento temporale e purtroppo buona parte dei frutti fu cascolata per la azione soprattutto dei venti, particolarmente sensibili a quella altitudine. La cascola naturalmente falsò i risultati del secondo conteggio e di conseguenza fra questo ed il primo del 6 Aprile non si potè stabilire nessun rapporto.

Purtuttavia alcune interessanti osservazioni poterono essere condotte sui singoli frutti ancora presenti sulle piante trattate e che all'epoca del primo conteggio erano già infetti. Si notò che in genere le lesioni vecchie, non solo non si erano estese, ma per sopravvenuti fenomeni di cicatrizzazione era possibile eliminare le scagliette di tessuto necrotizzato, mettendo a nudo al di sotto la nuova epidermide suberificata; in corrispondenza della lesione restava una infossatura superficiale.

Lo stesso fatto non si riscontrava sulle lesioni dei frutti appartenenti alle piante non trattate, così come non si verificava sui frutti delle piante trattate per quelle lesioni derivanti, secondo una verifica eseguita il 22 Maggio, da infezioni sopravvenute dopo i trattamenti, quando cioè era cessata l'azione del preparato antibiotico. Difatti sia nel primo che nel secondo caso le lesioni apparivano tipicamente infossate e in evidente progresso; e gli isolamenti da esse effettuati restituirono in massima parte *Xanthomonas pruni*.

Tutto ciò permetteva di pensare che indubbiamente un'azione inibitrice verso il patogeno si era verificata, e tale da consentire che si esplicasse una netta reazione difensiva dei tessuti interessati.

Dopo la prima irrorazione con Agrimycin-100 in alcune piante fu notato un marcato impallidimento fogliare, che scomparve però rapidamente ; dopo la seconda irrorazione il fenomeno si verificò in misura meno evidente e con lo stesso carattere di transitorietà.

Sperimentazione del 1957

Le prove furono riprese nel 1957, dato che nel '56 un fortissimo attacco di *Sclerotinia laxa* (Aderh.) Ruhl. aveva distrutto quasi totalmente i fiori, rendendo pertanto impossibile la sperimentazione.

Si decise di stabilire un raffronto tra il comportamento dell'Agrimycin-100 e quello del Solfato di zinco il quale, dalle constatazioni effettuate durante gli anni precedenti, sembrava doversi considerare il mezzo più valido per contenere le infezioni di *Xanthomonas pruni* sull'Albicocco. Ed in quanto all'Agrimycin-100, oltre alla prova con 3 irrorazioni, se ne aggiunse un'altra con 5 ; sicchè in definitiva la sperimentazione comprendeva i seguenti trattamenti :

Agrimycin-100, in sosp. acquosa allo 0,07% (100 p.p.m. di prodotto attivo) - 3 irrorazioni ;

Agrimycin-100, in sosp. acquosa allo 0,07% (100 p.p.m. di prodotto attivo) - 5 irrorazioni ;

Solfato di zinco 1,5%, neutralizzato con calce idrata - 3 irrorazioni ;

Testimone, N.N.

Le prove furono condotte nello stesso albicoccheto del '55. All'uopo si scelsero 3 gruppi di 12 piante, var. « S. Francesco », disposti in tre punti diversi del frutteto ; in ogni pianta si contrassegnarono due branche diametralmente opposte sulla chioma e situate secondo la direzione Nord-Sud oppure Est-Ovest. In ogni gruppo furono disposti a caso i quattro trattamenti, talchè ogni trattamento comprese 3 piante e quindi 6 branche contrassegnate per le successive osservazioni.

I trattamenti stessi, con le dovute precauzioni, furono iniziati subito dopo l'allegagione dei frutti e continuati secondo il seguente calendario :

Agrimycin-100 (3) : 28 Marzo - 7 Aprile - 18 Aprile.

Agrimycin-100 (5) : 28 Marzo - 7 Aprile - 18 Aprile - 27 Aprile - 7 Maggio.

Solfato di zinco : 28 Marzo - 12 Aprile - 30 Aprile.

L'intervallo tra una irrorazione e l'altra di solfato di zinco si stabilì superiore a quello indicato da Morwood (1947), in quanto precedenti prove avevano mostrato che il trattamento, intervallato di 10 giorni, induceva sulle piante fenomeni di tossicità di un certo rilievo e, con un intervallo inferiore, determinava addirittura una rapida defogliazione.

Il primo conteggio dei frutti sani e di quelli infetti, sulle branche contrassegnate, fu effettuato il 16 Maggio e si registrarono i dati che, statisticamente elaborati, si riportano nella tabella che segue.

Tabella I

Percentuali di frutti infetti da *Xanthomonas pruni* - Conteggio del 16-5
(Medie per pianta)

	Trattamenti	Medie	Differenze fra le medie		Limite di significatività per P = 0,05
1	Agrimycin-100 (3).	37,11	(1–2)	17,66	6,75
2	Agrimycin-100 (5).	19,45	(2–3)	5,77	
3	Solfato di zinco (3)	13,68	(1–3)	23,43	

Il secondo conteggio fu operato il 16 Giugno, dieci giorni prima che avvenisse la raccolta dei frutti ; i risultati sono riportati nella tabella che segue.

Tabella II

Percentuali di frutti infetti da *Xanthomonas pruni* - Conteggio del 16-6
(Medie per pianta)

	Trattamenti	Medie	Differenze fra le medie		Differenze tra test. e trattam.		Limite di significatività per P = 0,05
1	Testimoni . . .	52,78	(1–2)	5,72			
2	Agrimycin-100 (3)	47,06	(2–3)	25,15	(1–2)	5,72	15,42
3	Agrimycin-100 (5)	21,91	(3–4)	5,65	(1–3)	30,87	
4	Solfato di zinco .	16,26	(2–4)	30,80	(1–4)	36,52	

Discussione dei risultati

I dati registrati durante il primo conteggio del 16 Maggio (Tab. I) misero in evidenza il diverso comportamento dei tre trattamenti di fronte alle infezioni di *Xanthomonas pruni*.

La percentuale più alta di frutti infetti fu denunciata dalle piante trattate con Agrimycin-100 (3), mentre quelle trattate con Agrimycin-100 (5) e soprattutto con solfato di zinco mostrarono percentuali nettamente e significativamente più basse. Ed il solfato di zinco, pur realizzando la migliore protezione, non conseguì risultati significativamente superiori a quelli dell'antibiotico applicato 5 volte.

Stando alla interpretazione dei dati del primo conteggio, si può affermare che l'azione esplicata dall'Agrimycin-100 (3) contro il patogeno è di gran lunga inferiore a quella degli altri due trattamenti e che di conseguenza l'antibiotico, applicato 3 volte, sembra realizzare una protezione insufficiente.

Tale affermazione è suffragata anche dai risultati del secondo conteggio (Tab. II) e precisamente dal fatto che tra la media dei frutti infetti delle piante-testimoni e quella delle piante trattate con 3 irrorazioni dell'antibiotico, esiste una differenza minima, non significativa, che denuncia pertanto un'azione del trattamento del tutto insufficiente.

Incoraggiante appare invece la difesa conseguita dal solfato di zinco e, subordinatamente, dall'Agrimycin-100 applicata 5 volte ; fra i risultati realizzati dai due trattamenti, come del resto si era osservato durante il primo conteggio, non esiste una differenza significativa.

Le medie di infezioni relative all'Agrimycin-100 (5), leggermente superiori a quelle del solfato di zinco, fanno pensare che l'antibiotico, dopo l'ultima irrorazione, abbia realizzato una minore protezione dei frutti dalle infezioni secondarie verificatesi presumibilmente durante il periodo 15 Maggio-15 Giugno. In altre parole, l'azione protettiva del solfato di zinco sembra risultare più prolungata di quella dell'antibiotico.

Ciò indicherebbe, con le dovute riserve di natura economica, la necessità di aumentare il numero delle irrorazioni di Agrimycin-100, tenuto anche conto delle prove di Goodman e Shepard (1956), secondo le quali le irrorazioni stesse dovrebbero essere almeno in numero di sei.

D'altra parte, alla superiore azione del solfato di zinco fecero riscontro considerevoli fenomeni di fitotossicità, caratterizzati da una diffusa « rugginosità » dell'epidermide dei frutti e da lievi ustioni sulle foglie. Ciò si verificava tanto più nettamente quanto più i frutti si avvicinavano alla invaiatura ed è probabilmente da mettere in relazione sia all'innalzamento della temperatura ambiente, sia alle modificazioni della stessa epidermide dei frutti. Tali inconvenienti sembrano del resto presentare una certa analogìa con quanto osservato da Ark (1953) e da Dunegan e Coll. (1954) sulle alterazioni da fitotossicità presentate dall'epidermide dei frutti di Pero difesi, contro il « fire-blight » delle Pomacee, con Poltiglia bordolese. È da ritenere pertanto che questi fenomeni si sarebbero ulteriormente aggravati se fosse stato praticato un numero maggiore di irrorazioni di solfato di zinco ; ma oltretutto, a ciò si opponeva la presenza nell'albicoccheto di colture ortive impiantate in consociazione verso la metà di Maggio.

Conclusioni

Le prime prove di lotta in pieno campo contro la « vaiolatura batterica » dell'Albicocco, nelle condizioni sotto le quali sono state condotte, possono fornire alcune interessanti indicazioni.

I. — Cinque irrorazioni con Agrimycin-100 a 100 p.p.m. sembrano conseguire una discreta difesa dei frutti ; purtuttavia il trattamento potrebbe essere suscettibile di migliori e più rispondenti risultati qualora si aumentasse il numero delle applicazioni, che non dovrebbe essere inferiore a sei.

II. — Il trattamento con tre irrorazioni di solfato di zinco all'1,5 % ha realizzato la migliore difesa, ma ha indotto sui frutti considerevoli fenomeni di fitotossicità. Sembra perciò decisamente da sconsigliare un maggior numero di irrorazioni.

III. — Ad evitare il presumibile alto costo di un trattamento comprendente 7-8 irrorazioni dell'antibiotico e ad evitare d'altra parte i danni ai frutti che si verificherebbero con 4-5 irrorazioni di solfato di zinco, sembrerebbero interessanti ulteriori prove volte ad accertare il comportamento di un trattamento misto, da iniziare con due irrorazioni di solfato di zinco e da continuare con 4-5 applicazioni di Agrimycin-100.

Naturalmente occorrerebbe preventivamente accertare se i due prodotti possano, sovrapponendosi, interferire sulla rispettiva efficacia, annullarsi o, peggio, causare fenomeni di fitotossicità.

Riassunto. Prove di lotta sono state condotte con un preparato a base di antibiotici (Agrimycin-100) e con solfato di zinco contro *Xanthomonas pruni* (Smith) Dowson su Albicocco in provincia di Napoli. Gli Autori, dopo una breve rassegna bibliografica, espongono i risultati ottenuti in due anni di prove.

Tre irrorazioni con Agrimycin-100 allo 0,07% (100 p.p.m.), iniziate subito dopo l'allegagione dei frutti e distanziate di 8 giorni, non hanno fornito una protezione sufficiente. Cinque irrorazioni, alla stessa concentrazione ed eseguite con lo stesso intervallo, hanno invece determinato, rispetto ai testimoni, un soddisfacente abbassamento della percentuale di frutti infetti; purtuttavia il trattamento ha mostrato di non difendere i frutti dalle infezioni secondarie sopravvenute dopo l'ultima irrorazione.

I trattamenti con Agrimycin-100 hanno indotto sulle piante, specialmente dopo le prime irrorazioni, una evidente clorosi fogliare, rivelatasi però di brevissima durata. È stata anche notata un'azione curativa del prodotto che, inibendo lo sviluppo del patogeno, permette ai tessuti attaccati di esplicare una reazione difensiva.

La migliore difesa è stata ottenuta con tre irrorazioni di solfato di zinco all'1,5%, distanziate di 15 giorni; peraltro i risultati conseguiti non sono stati significativamente superiori a quelli dell'Agrimycin-100 applicata cinque volte. Il trattamento però indusse considerevoli manifestazioni di fitotossicità sull'epidermide dei frutti e leggere ustioni sulle foglie.

Gli Autori concludono indicando la necessità di aumentare il numero delle irrorazioni con Agrimycin-100 ed auspicando soprattutto ulteriori prove volte ad accertare il comportamento di un trattamento misto, da iniziare con due irrorazioni di solfato di zinco distanziate di 15 giorni e da continuare con 4-5 irrorazioni di Agrimycin-100.

Summary. Field experiments were carried on with an antibiotics-substance (Agrimycin-100) and with zinc sulphate for control of Apricot black spot (*Xanthomonas pruni* [Smith] Dowson) in the Naples « provincia ». The Authors, after a short literature review, give the results of two years trials

Three sprays with Agrimycin-100 at 0,07% (100 p.p.m.), which were given immediatly after fruitlet stage at 8 days interval, did not show a sufficient protection. Five sprays at the same concentration and intervals gave satisfying reduction of infected fruits percentage when they were compared with untreated check; nevertheless this treatment failed to protect the fruits against secondary infections which followed the last spray.

After the first sprays the Agrimycin-100 treatments have induced on the plants a temporary clorosis. A curative action of this product was noted, which inhibited the development of the pathogen allowing the diseased tissues a difensive reaction.

The better control was obtained with three sprays of 1,5% zinc sulphate at an interval of 15 days; but the results were not statistically significant from those of Agrimycin-100 applied five time. The zinc sulphate treatment induced considerable phytotossic effects on the epidermis of the fruits and slight burnings on the leaves.

The Authors conclude indicating the necessity of increasing the number of sprays with Agrimycin-100, and that of a mixed trial beginning with two sprays of zinc sulphate at an interval of 15 days followed by 4-5 sprays of Agrimycin-100.

BIBLIOGRAFIA

ARK P. A., Effect of crystalline streptomycin on phytopathogenic bacteria and fungi. « Phytopathology », XXXVII, 842, 1947.

ID., Use of streptomycin dust to control Fire-blight. « Plant Disease Reporter », XXXVII, n. 7, 404-405, 1953.

BOYLE A. M., Further studies of the bacterial necrosis of the Giant Cactus. « Phytopathology », XXXIX, 1029-1052, 19449.

BROWN J. G., Cytological effects of penicillin and streptomycin on crown gall. « Phytopathology », XXXVIII, 3, 1948.

BROWN J. G. and BOYLE A. M., Effect of Penicillin on a plant pathogen. « Phytopathology », XXXIV, 760-761, 1944.

BROWN J. G. and BOYLE A. M., Penicillin treatment of Crown-gall. «Science», C, n. 2606, 528, 1944 a.

BROWN J. G. and HEPP D. M., Effect of Streptomycin on budwood infected with *Phytomonas pruni*. « Science », CIV, n. 2696, 208, 1946.

BURKE D. W., Test of hybrid and varietal resistance and direct measures for the control of bacterial blight of Beans. « Univ. Wyo. Publ.», XIV 1-4, 65, 1949.

CLAYTON C. N., Streptomycin for Fire -blight control on Apple in North Carolina. « Plant Disease Reporter », XXXIX, n. 2, 128-131, 1955.

DARPOUX H., Les antibiotiques dans le traitement des maladies des plantes. « Rapports et Comunications parvenus aux Sections 21 à 27 du Huitième Congrès International de Botanique », pagg. 73-82, P. André Imprimeur, Paris 1954.

DARPOUX H. et FAIVRE-AMIOT A., Essais d'application des propriétés antagonistes de divers micro-organismes et des substances antibiotiques, dans la lutte contre les maladies des plantes. « Compte Rendues de l'Accademie Agricole de France », XXXVI, n. 4, 158-161, 1950.

DE ROPP R. S., Action of streptomycin on plant tumours. « Nature », CLXII, n. 4116, 459-460, 1948.

ID., The action of antibacterial substances on the growth of *Phytomonas tumefaciens* and of crown gall tissues. « Phytopathology », XXXIX, 822-828, 1949.

DUNEGAN J. C., KIENHOLZ J. R., WILSON R. A. and MORRIS W. T., Control of Pear Blight by a Streptomycin-Terramycin mixture. « Plant Disease Reporter », XXXVIII, n. 9, 666-669, 1954.

ENGLISH A. R. and VAN HALSEMA G., A note on the delay in the emergence of resistant *Xanthomonas* and *Erwinia* strains by the use of Streptomycin plus Terramycin combinations. « Plant Disease Reporter », XXXVIII, n. 7, 429-431, 1954.

Garber J. D., Rothrock J. W., Reynolds H. C. and Gray R. A., Laboratory and field studies of agricultural Streptomycin. « Agricultural Chemicals », IX, n. 12, 32-34, 1954.

Goodman R. N., Fireblight control with sprays of Agri-mycin, a Streptomycin-Terramycin combination. « Plant Disease Reporter », XXXVIII, n. 12, 874-878, 1954.

Goodman R. N. and Shepard P., Indications of *Xanthomonas pruni* control with antibiotic sprays. « Plant Disease Reporter », XL, n. 2, 93-102, 1956.

Hampton J. E., Cure of crown gall with antibiotics. « Phytopathology », XXXVIII, II, 1948.

Heuberger J. W. and Poulos P. L., Control of Fire-blight and Frog-eye leaf spot (Black rot) diseases of Apples in Delaware in 1952. « Plant Disease Reporter », XXXVII, n. 2, 81-82, 1953.

Hildreth R. C. and Starr G. H., Antibiotics alone and in combination for the control of bacterial blight of Beans. « J. Colo.-Wyo. Acad. Sci.», IV, 2, 58, 1950.

Kienholz J. R., Control of Fire Blight on Forelle Pears with antibiotics at Hood River, Oregon. « Plant Disease Reporter », XXXIX, n. 3, 208-209, 1955.

Kirby R. S., Effectiveness of antibiotics for Apple Fire-blight control under epidemic conditions in Pennsylvania. « Plant Disease Reporter », XXXVIII, n. 7, 432-433, 1954.

Mitchell J. W., Zaumeyer W. J. and Anderson W. P., Translocation of Streptomycin in Bean plants and its effect on bacterial blight. « Science », CXV, 114-115, 1952.

Morwood R. B., Experiment on control of bacterial spot of plum. « Queensland Agr. Journal », LXV, 239-242, 1947.

Murneek A. E., Thiolutin as a possible inhibitor of Fire Blight. « Phytopathology », XLII, 57, 1952.

Pramer D., Observations on the uptake and translocation of five Actinomycete antibiotics by Cucumber seedlings. « The Annals of Applied Biology », XL, n. 4, 617-622, 1953.

Rudolph B. A., Attempts to control bacterial Blight of Pear and Walnut with penicillin. « Phytopathology », XXXVI, 717-725, 1946.

Smith W. L., Seed treatment with streptomycin for the control of bacterial blight of Beans. « J. Colo-Wyo. Acad. Sci.», IV, I, 49, 1949.

Starr, G. H., Burke D. W., Smith W. L., Hildreth R. C. and Paulus A., Antibiotics for Bean blight control. « Agron. J.», XLIII, 12, 617, 1951.

Verneau R., La vaiolatura batterica dell'Albicocco. « Ricerche, Osservazioni e Divulgazioni fitopatologiche, per la Campania ed il Mezzogiorno », XII, 63-69, 1954.

Winter H. F. and Young H. C., Control of fire-blight of Apple in Ohio in 1953. « Plant Disease Reporter », XXXVII, n. 9, 463-464, 1953.

Zaumeyer W. J., Thomas H. R., Mitchell J. W. and Fisher H. H., Field control of Halo Blight of Beans with streptomycin. « Phytopathology », XLIII, 407, 1953.

RECENSIONI

STAKMAN E. C. and HARRAR J. G., *Principles of Plant Pathology.* "The Ronald Press Company, New York", pagg. 581, 1957.

È stato edito da poco, dalla Ronald Press Company di New York, un trattato di Patologia vegetale, dal titolo Principles of Plant Pathology, dei professori E. C. Stakman e J. George Harrar.

Gli Autori affermano, nella loro prefazione, che il trattato è particolarmente dedicato a studenti specializzati e a quegli studiosi che si occupano del difficile problema dell'aumento della produzione mondiale. In verità il volume è una miniera ricchissima di notizie e di esperienze che raramente si trovano in altri trattati e che sono il poderoso consuntivo di mezzo secolo di studi sui più vitali problemi di fitopatologia di tutto il mondo. Alla trattazione scientifica dei vari argomenti è accoppiata una seria documentazione dell'influenza dei patogeni sulla produttività, cosicchè forse per la prima volta è studiato a fondo il lato economico della fitopatologia così aderente alle esigenze del momento attuale.

L'opera si può considerare divisa in due parti : la prima vasta e genialmente concepita ed esposta, studia la malattia, i rapporti fra l'ospite ed il parassita, la riproduzione e la genetica dei patogeni, la diffusione dei germi e l'influenza dell'ambiente sullo sviluppo della malattia ; la seconda tratta in modo completo della lotta contro le malattie con tutti i mezzi oggi a nostra disposizione.

La prima parte inizia con l'illustrazione della importanza delle piante come alimenti, come fonte di medicamenti e di droghe e di svariati prodotti utili all'uomo. Segue una breve storia della patologia vegetale e sono messe in evidenza le perdite conseguenti all'azione dei più pericolosi parassiti delle piante.

Brillantissima è la parte che riguarda la fisiologia del parassitismo e della procreazione.

L'auto-parassitismo della generazione saprofitica dei muschi sul gametofito è distinto dal vero parassitismo nelle sue varie forme dall'antibiosi alla simbiosi antagonista.

I parassiti obbligati sono tali perchè mancano dei geni per la vita saprofitaria, mentre dalle particolari necessità nutrizionali deriva la specializzazione per i vari ospiti da ciascuno dei quali il parassita può avere soddisfatte esigenze di determinati elementi che non potrebbe trovare su altri ospiti. Si tratta forse di alimenti rappresentati da prodotti intermedi e talora assai fugaci originati nel metabolismo di un tipo di ospite e non di altri.

L'insorgenza delle razze e dei biotipi nei microrganismi patogeni, ivi compresi i virus, è dovuta a mutazione, o a ibridazione o ad eterocariosi. Essa è continua, anche se non è sempre stata constatata, e dà luogo ad infinite combinazioni per la possibilità, nella ibridazione e nella eterocariosi, dei più svariati accoppiamenti fra specie, varietà, razze e biotipi.

La produzione di germi (inoculo) interessa il fitopatologo dal punto di vista morfologico, numerico e fisiologico, ma notevolissima importanza pratica hanno anche la liberazione e la disseminazione dei germi sia a modeste

come a grandi distanze. Dimostrativi esempi sono forniti di parassiti che, per le modalità con le quali formano i germi, non possono diffondersi che a brevi distanze (*Venturia inaequalis*, *Sclerospora* sp., *Gymnosporangium*, *Endothia parasitica*, *Ustilago tritici* e *Ustilago nuda* ecc.), in confronto con quelli che producono germi trasportabili dal vento e grandissime distanze, come le ruggini dei cereali. Tra queste vi è la ruggine nera che soggiace a fatti biologici che in America limitano la conservazione dei germi nel luogo di produzione ed ha bisogno del trasporto aereo per determinare le grandi epidemie che in ogni luogo spesso si verificano.

Nel fenomeno della infezione sono illustrate la germinazione dell'inoculo in rapporto all'influenza dei fattori ambientali e la penetrazione del parassita nell'ospite, di cui si esaminano i vari tipi, ed infine è seguito il periodo dell'incubazione fino alla comparsa dei primi sintomi patologici. Della malattia è seguita la evoluzione in rapporto ai diversi fattori ambientali fisici e chimici fino a spiegare e ad esemplificare lo sviluppo delle epidemie.

Una rapida rassegna è fatta, nel capitolo 12 delle malattie delle piante di interesse internazionale, passando in rassegna quelle del grano, del riso, del mais, della patata, della canna da zucchero, del banano, del caffè, degli agrumi, del cacao, della noce di cocco e della evea.

La seconda parte, dedicata alla lotta contro le malattie, inizia con l'esame delle misure atte a limitare la diffusione dei parassiti (quarantena).

Il più antico documento in questo senso è quello di Rouen del 1660 che, per ridurre la diffusione della ruggine nera, decretava la distruzione del *Berberis*, seguono poi a circa 2 secoli di distanza altri tentativi di legislazione fitopatologica negli Stati Uniti d'America, ed in Europa, fino a che attualmente la legislazione fitopatologica mondiale è divenuta molto complessa ed e in continua evoluzione. Le varie disposizioni, oggi indispensabili per il volume e la celerità dei trasporti di prodotti agricoli, tengono conto della natura dei parassiti, del loro modo di disseminazione e di azione e assai meno delle barriere naturali che hanno perso gran parte della loro importanza.

Le misure di quarantena, non ostante vari e seri argomenti che alcuni vorrebbero opporvi, esistono, anche se non sempre fondate, ed hanno indubbiamente portato notevoli vantaggi nel campo internazionale.

Anche le campagne di estinzione contro varie malattie hanno dato grandiosi risultati. Ne sono esempi la distruzione degli ospiti intermedi delle ruggini, utile non solo per la diffusione vicina delle malattie, ma specialmente per impedire la creazione di nuove razze; e la distruzione, e successiva sostituzione degli agrumi, coltivati e spontanei, ospiti della batteriosi da *Xanthomonas citri*.

Un interessante elenco delle maggiori organizzazioni internazionali che hanno per fine la protezione delle piante, chiude questo capitolo della quarantena.

Nel campo della vera e propria lotta contro le malattie, sono prese in considerazione le cosidette pratiche colturali, la lotta chimica e le varietà resistenti.

Tutte le varie pratiche culturali sono esaminate: dalle lavorazioni del terreno, alle concimazioni, alle rotazioni, agli ammendamenti fisici, chimici e biologici del suolo; alla lotta contro le erbe infestanti, ai trattamenti ai semi.

Ugualmente per la lotta chimica sono descritti i diversi metodi di protezione esterna le possibilità attuali della terapia interna, gli anticrittogamici, gli antibiotici, i fumiganti e gli erbicidi.

I risultati pratici della introduzione di varietà resistenti in America non possono che incoraggiare gli studiosi di genetica e di patologia vegetale a proseguire su questa strada non ostante qualche doloroso insuccesso. Sarà necessario approfondire ancora molti altri fatti sulla genetica, la fisiologia e l'ecologia dell'ospite e del parassita, come pure sui loro rapporti nel processo patologico. D'altra parte sarà molto probabile che in avvenire, come ora, le varietà non possano essere resistenti ovunque ma solo in determinate aree.

La pianta può essere resistente alle malattie, perchè sfugge ad esse per favorevoli caratteristiche di accrescimento o di maturazione, perchè si oppone all'entrata o al progresso del parassita nei suoi tessuti o perchè è tollerante, cioè sopporta senza troppi danni l'azione del parassita.

Variazioni della resistenza possono avvenire in varietà resistenti.

È ormai noto che una determinata varietà di grano resistente ad una razza fisiologica di ruggine, può diventare suscettibile alla stessa razza se varia la temperatura. Come la temperatura, anche le variazioni dell'intensità luminosa possono indurre variazioni sulla resistenza, mentre gli altri fattori ambientali influiscono assai meno.

Il libro si chiude con un suggestivo capitolo sui futuri problemi della patologia vegetale. I progressi della patologia in meno di un secolo, da che esiste come scienza sono giganteschi ed ogni anno si acquisiscono nuove conoscenze e nuovi metodi nella lotta contro le malattie. Tra i problemi attuali, molti e complessi, gli AA. citano : lo studio ed il raggruppamento dei biotipi dei vari gruppi di parassiti, la spiegazione delle grandi differenze nella virulenza e nella specializzazione per gli ospiti fra biotipi strettamente correlati, lo studio dei nematodi (che in America è eseguito dai fitopatologi), i rapporti reciproci fra i vari parassiti di un medesimo ospite, l'approfondimento delle ricerche sui virus ecc. Ma un problema dei più avvincenti è quello dei parassiti obbligati, specie delle ragioni del loro parassitismo e della necessità della loro coltura su mezzi artificiali.

Infine è necessario migliorare gli attuali mezzi di lotta, specie quelli genetici tendendo ad una resistenza permanente, ed escogitarne di nuovi.

Ancora più grandiosi sono i problemi che attendono una soluzione da un futuro più lontano.

Le ricerche sul mistero della vita, confinante con la filosofia, avranno per base i vari fenomeni legati direttamente o indirettamente al parassitismo e dovranno essere sostenuti dall'ecologia, dalla fisiologia e dalla chimica biologica, per sfociare nelle immunità permanenti delle piante alle malattie.

Composti chimici, radiazioni ed altri agenti mutageni dovranno essere utilizzati per ottenere modificazioni dell'assetto cromosomico delle piante coltivate, utili contro i parassiti.

Il futuro sarà certamente l'era dei prodotti sistemici, siano essi antibiotici, sistemi di enzimi, ormoni, prodotti stimolanti i tessuti di difesa o l'accrescimento della pianta o prodotti diversi stimolanti l'immunità come avviene nella preimmunizzazione con i virus, o infine anticrittogamici.

Chi comincia a leggere questo libro lo legge fino in fondo attratto dalla forma piana e scorrevole con la quale sono trattati grandiosi problemi, dalle lucide e precise definizioni di concetti di patologia e dalla semplicità con la quale, nei casi controversi, sono dati ponderati giudizi dettati da lunga esperienza.

In alcuni capitoli, indubbiamente dettati dallo Stakman, si riconosce lo stile delle sue conversazioni ricco di concetti e di geniale interpretazione e previsione.

Il volume presenta una ricca documentazione di fotografie, di cartine e di diagrammi, in genere ottimamente scelte.

C. Sibilia